



KARINA DA SILVA CHAVES

Avaliação da maturação e perfil sensorial de queijos Prato probióticos
tipo lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e
Bifidobacterium Bb-12

CAMPINAS

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KARINA DA SILVA CHAVES

Avaliação da maturação e perfil sensorial de queijos Prato probióticos tipo
lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para obtenção do Título de Doutora em Tecnologia
de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante

Este exemplar corresponde à versão final da tese
defendida pela aluna Karina da Silva Chaves
e orientada pela Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante

Assinatura da Orientadora

Campinas

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano de Souza - CRB 8/5816

C398a Chaves, Karina da Silva, 1984-
Avaliação da maturação e perfil sensorial de queijos Prato probióticos tipo
lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La - 5 e *Bifidobacterium* Bb - 12 /
Karina da Silva Chaves. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Mirna Lúcia Gigante.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia de Alimentos.

1. Probióticos. 2. Queijo Prato. 3. Simulação das condições gastrointestinais.
4. Proteólise. I. Gigante, Mirna Lúcia. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of ripening and sensory profile of probiotic Prato cheese
with *Lactobacillus acidophilus* La - 5 and *Bifidobacterium* Bb - 12

Palavras-chave em inglês:

Probiotics

Prato cheese

Simulated gastrointestinal conditions

Proteolysis

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Doutora em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Mirna Lúcia Gigante [Orientador]

Adriane Elisabete Antunes de Moraes

Eliana Paula Ribeiro

Jorge Herman Behrens

Priscila Cristina Bizam Vianna

Data de defesa: 25-04-2014

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante (Orientadora)

Profa. Dra. Adriane Elisabete Antunes de Moraes (Membro Titular)

Profa. Dra. Eliana Paula Ribeiro (Membro Titular)

Prof. Dr. Jorge Herman Behrens (Membro Titular)

Profa. Dra. Priscila Cristina Bizam Vianna (Membro Titular)

Dra. Izildinha Moreno (Membro Suplente)

Dra. Patrícia Blumer Zacarchenco Rodrigues de Sá (Membro Suplente)

Profa. Dra. Walkíria Hanada Viotto (Membro Suplente)

RESUMO

A adição do probiótico na fabricação de queijos altera a sua microbiota e, conseqüentemente, pode afetar o desenvolvimento da maturação, o perfil sensorial e funcional do produto. O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento da maturação, a viabilidade dos micro-organismos e as características físico-químicas e sensoriais de queijo Prato probiótico tipo lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12, juntos ou separadamente. Avaliou-se também, o efeito da matriz queijo sobre a viabilidade dos micro-organismos probióticos durante a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal. Para a fabricação dos queijos foram realizados os seguintes tratamentos: 1) adicionado de cultura láctica tipo O (queijo controle); 2) adicionado de cultura láctica tipo O e *L. acidophilus*; 3) adicionado de cultura láctica tipo O e *Bifidobacterium*; 4) adicionado de cultura láctica tipo O, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*. O experimento foi realizado em esquema fatorial 4 x 6, em blocos inteiramente casualizados com três repetições. Os queijos foram avaliados quanto à composição físico-química, proteólise, textura e viabilidade dos micro-organismos após 1, 7, 14, 28, 40 e 60 dias de armazenamento refrigerado. A viabilidade dos micro-organismos probióticos durante simulação das condições gastrointestinais foi avaliada após 28 e 60 dias de armazenamento. Os dados foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias a um nível de significância de 5%. A análise sensorial descritiva através do método de Perfil Livre dos queijos foi realizada após 28 e 60 dias de armazenamento e os dados foram avaliados por Análise de Procrustes Generalizada (APG). Os resultados indicaram que os queijos controle e probióticos apresentaram composição típica de queijo Prato e que os tratamentos não afetaram sua composição. Durante 60 dias de armazenamento, os queijos apresentaram aumento da proteólise, redução da firmeza e os queijos probióticos mantiveram altas contagens de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*. Os queijos probióticos apresentaram perfis sensoriais similares, com características de aroma e sabor de queijo Prato mais pronunciados que o queijo controle. Os micro-organismos probióticos adicionados nos queijos foram resistentes à simulação do trato gastrointestinal e à bile. O conjunto dos resultados indicou que a adição de probióticos em queijo Prato mostrou-se uma alternativa viável, uma vez que promoveu a manutenção

da viabilidade destes micro-organismos durante o processamento e armazenamento refrigerado sem ocasionar alterações indesejáveis nas características sensoriais do produto e conferiu proteção aos probióticos durante a simulação gastrointestinal.

ABSTRACT

The addition of probiotics during cheese manufacture changes its microbiota and, consequently, may affect ripening, sensory and functional profile of the product. The aim of this study was to evaluate ripening, viability of microorganism, physicochemical and sensory characteristics of probiotic Prato cheese with *L. acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium* Bb-12 added together or separately. The effect of the cheese matrix on the viability of the probiotics during the simulation of the passage through the gastrointestinal tract was also evaluated. For the manufacture of the Prato cheeses, the following treatments were studied: 1) addition of type O lactic culture (control cheese); 2) addition of type O lactic culture and *L. acidophilus*; 3) addition of type O lactic culture and *Bifidobacterium*; 4) addition of type O lactic culture, *L. acidophilus*, and *Bifidobacterium*. The experiment was repeated three times, and assembled in a 4 x 6 factorial design, using a completely randomized block design. Cheeses were evaluated regarding their physicochemical composition, proteolysis, texture profile and viability of microorganisms after 1, 7, 14, 28, 40 and 60 days of refrigerated storage. Probiotics viability during simulated gastrointestinal conditions was evaluated after 28 and 60 days of storage. Data were evaluated using Analysis of Variance (ANOVA), and comparison of means by Tukey's test at 5% significance level. Descriptive sensory analysis was performed using free-choice profiling after 28 and 60 days of cheese storage, and data were submitted to Generalized Procrustes Analysis (GPA). Both control and probiotic cheeses presented typical composition of Prato cheese and the treatments did not affect cheese composition. During 60 days of storage, an increased proteolysis, and decreased firmness was observed for all cheeses, and high populations of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* were found for the probiotic cheeses. Probiotic cheese showed similar sensory profiles with characteristics aroma and taste of Prato cheese more pronounced than control cheeses. The probiotics added to the cheeses were resistant during the simulation of the passage through the gastrointestinal tract and bile. In conclusion, the results evidenced that the addition of probiotics in Prato cheese proved to be a viable alternative, since the viability of microorganisms remained during cheese processing and storage, without causing undesirable changes in the sensory

characteristics of the product, and provided protection to the probiotics during simulated gastrointestinal conditions.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	xvii
LISTA DE TABELA.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Probióticos	3
2.2 Sobrevivência entérica	5
2.3 Queijos Probióticos.....	7
2.4 Queijo Prato	11
2.5 Análise sensorial: Método descritivo de Perfil livre.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Preparo da cultura	16
3.2 Fabricação do queijo Prato	16
3.3 Amostragem e indicações das análises realizadas	18
3.4 Determinações analíticas	18
3.4.1 Análises físico-químicas	18
3.4.2 Análises microbiológicas	21
3.4.2.1 Definição de metodologia seletiva para enumeração de <i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactococcus lactis</i> e NSLAB.	21
3.4.2.2 Avaliação microbiológica do leite e queijo.....	21
3.5 Avaliação da viabilidade das culturas probióticas nos queijos Prato durante a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal	22
3.5.1 Preparo do suco gástrico e intestinal artificial e da solução de bile.....	22
3.5.2 Avaliação da viabilidade das culturas probióticas	23
3.6 Delineamento experimental e análise estatística dos dados.....	23
3.7 Avaliação sensorial do queijo Prato pelo método de Perfil Livre	24

3.7.1 Amostras.....	25
3.7.2 Seleção de provadores.....	25
3.7.3 Levantamento de atributos.....	25
3.7.4 Avaliação das amostras e análise estatística dos dados.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Caracterização físico-química e microbiológica do leite.....	27
4.2 Caracterização físico-química e microbiológica dos queijos Prato	28
4.2.1 Efeito dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre as características de maturação dos queijos Prato.....	30
4.2.3 Viabilidade da microbiota dos queijos Prato durante a maturação	37
4.3 Avaliação da viabilidade de <i>L. acidophilus</i> La-5 e <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 no queijo Prato durante exposição a condições que simulam a passagem pelo trato gastrointestinal	39
4.4 Avaliação sensorial dos queijos Prato pelo método de Perfil Livre	42
5. CONCLUSÃO.....	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXO 1	79
ANEXO 2.....	81

DEDICATÓRIA

A Deus, acima de tudo e de todos, aos meus pais, Walter e Leila, aos meus irmãos Tiago e Kátia, ao meu noivo, Paulo, e aos meus amigos por todo apoio, amor e compreensão.

"Quem faz escolhas e assume suas consequências escreve sua própria história, constrói seus próprios caminhos."

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela vida e por me dar forças nos momentos difíceis desta caminhada.

À Universidade Estadual de Campinas, em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar o Doutorado.

A Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante, pela orientação, ensinamentos transmitidos e pela paciência durante estes anos.

Ao Prof. Dr. Jorge Herman Behrens pelas sugestões e ajuda na parte sensorial do trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso pelos ensinamentos e paciência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto de pesquisa.

As técnicas Bete, Renata e Diana, pelos ensinamentos, ajuda e amizade.

Aos meus amigos do laboratório de Leite e Derivados, Cecília, Guilherme Maciel, Laís, Carol Merheb, Clarice, Diogo, Lígia, Mônica, Veridiana, Vitor Rubim, Juliana, Mayara, Fábio, Helder, Bia e Jaqueline que sempre estiveram sempre do meu lado me ajudando na elaboração deste trabalho e pela amizade dentro e fora da UNICAMP.

Aos amigos da FEA, Ana, Erick, Juliana Bürger, Graciela, Simone, Alexandre, Camila, Vitor Vidal, Vanessa, Miguel, Leandro, Bruna, Thiago e Talita porque sem vocês tudo seria muito sem graça.

Aos participantes da análise sensorial, muito obrigada pela disponibilidade e colaboração na pesquisa.

A Tatiane por toda ajuda e apoio nas análises sensoriais.

Aos amigos da secretária do DTA, Tânia, Marlene e Leonardo por toda ajuda.

Aos meus pais, Walter e Leila, pelo amor, carinho, compreensão e apoio incondicional.

Aos meus irmãos Tiago e Kátia pelo apoio, carinho e amizade.

Ao meu noivo, Paulo, por todo apoio, amor e palavras de incentivo para que alcançasse mais essa conquista.

As minhas amigas, Luiza, Luciana, Carolina e Mariana, que mesmo longe sempre torceram por mim.

A todos que, diretamente ou indiretamente, contribuíram por mais este êxito.

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma geral de processamento dos queijos Prato.	17
Figura 2. Efeito dos tratamentos sobre (a) acidez, expressa em % de ácido láctico e (b) pH	31
Figura 3. Efeito do tempo de armazenamento sobre a acidez expressa em % de ácido láctico	32
Figura 4. Efeito dos tratamentos sobre: (a) NS pH 4,6 (% NT); (b) NS TCA 12 % (% NT) na proteólise dos queijos Prato	33
Figura 5. Efeito do tempo de maturação (dias) sobre NS pH 4,6 (% NT), NS TCA 12 % (% NT) e a firmeza dos queijos Prato adicionados ou não de micro-organismos probióticos	33
Figura 6. Eletroferograma capilar do queijo Prato controle durante o tempo de armazenamento.....	35
Figura 7. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 durante o tempo de armazenamento.....	35
Figura 8. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 durante o tempo de armazenamento	36
Figura 9. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 e <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 durante o tempo de armazenamento.....	36
Figura 10. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo aparência: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.....	46
Figura 11. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo aparência: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.....	48
Figura 12. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo aroma: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	50
Figura 13. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo aroma: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	52

Figura 14. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo sabor: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	55
Figura 15. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo sabor: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	57
Figura 16. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo textura: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	60
Figura 17. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo textura: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.	62

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Composição físico-química e microbiológica do leite cru e tratado termicamente	27
Tabela 2. Composição físico-química e viabilidade dos micro-organismos nos queijos adicionados ou não de <i>L. acidophilus</i> La-5 e <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 após 1 dia de armazenamento refrigerado	28
Tabela 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) sobre o efeito dos tratamentos, do tempo de armazenamento e a interação tratamento x tempo sobre as características dos queijos Prato.	30
Tabela 4. Viabilidade dos micro-organismos nos queijos Prato durante o tempo de armazenamento.....	38
Tabela 5. Viabilidade do <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 e <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 em log UFC / g de queijo durante a exposição dos queijos Prato probióticos ao suco gastrointestinal artificial após 28 e 60 dias de armazenamento.	40
Tabela 6. Resumo da análise de variância (ANOVA) sobre o efeito dos tratamentos, tempo de exposição e interação entre os tratamentos e o tempo de exposição sobre a viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> nos queijos durante exposição à bile 0,5 % após 28 e 60 dias de armazenamento.	41
Tabela 7. Efeito do tempo de exposição à bile 0,5 % sobre a viabilidade do <i>L. acidophilus</i> La-5 e <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 em log de UFC / g de queijo, após 28 dias de armazenamento.....	42
Tabela 8. Número de vezes que cada atributo foi citado pelos provadores ¹ e número de vezes que cada atributo apresentou alta correlação ($r \geq 0,7$) com a 1 ^a e 2 ^a dimensões ²	43
Tabela 9. Atributos de aparência com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.	47
Tabela 10. Atributos de aparência com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.	49
Tabela 11. Atributos de aroma com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.....	51
Tabela 12. Atributos de aroma com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.....	53
Tabela 13. Atributos de sabor com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.....	56

Tabela 14. Atributos de sabor com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.....	58
Tabela 15. Atributos de textura com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.	61
Tabela 16. Atributos de textura com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.	63

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da área de alimentos funcionais tem motivado um grande número de estudos focados na incorporação de micro-organismos probióticos em produtos lácteos e não lácteos. A incorporação dos probióticos em queijos tem se mostrado promissora devido às características físico-químicas do produto, como elevado pH, alto teor de proteína e gordura e ambiente anaeróbico, favorecendo a manutenção da viabilidade destes micro-organismos (STANTON et al., 1998; VINDEROLA et al., 2000a; BERGAMINI et al., 2009a).

O desenvolvimento das características típicas dos diferentes tipos de queijos está estreitamente relacionado à sua microbiota durante a maturação. Na fabricação do queijo Prato tipo lanche utiliza-se normalmente coalho microbiano e cultura acidificante tipo O, constituída de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Estes micro-organismos, juntamente com os naturais do leite remanescentes da pasteurização e o coagulante residual da massa, são responsáveis pela maturação do queijo Prato, caracterizado pelo amaciamento e pelo desenvolvimento de sabor e aroma característicos do produto já nos primeiros 25 dias de maturação (FURTADO e LOURENÇO-NETO, 1994; BRASIL, 1997). A adição de micro-organismos probióticos no processo de fabricação dos queijos pode interferir nas suas propriedades funcionais e sensoriais, uma vez que estes micro-organismos também participaram ativamente no processamento e maturação do produto (VINDEROLA et al., 2000a; ONG et al., 2006; BERGAMINI et al., 2009b).

A adição de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 na fabricação de diferentes tipos de queijos, tem sido estudada por diversos autores que, de forma geral, observaram a manutenção da viabilidade e aumento da proteólise podendo ou não afetar as características sensoriais do produto (Mc BREARTY et al., 2001; BURITI et al., 2005; ÖZER et al., 2008; 2009; ALBENZIO et al., 2013).

Tendo em vista os benefícios apresentados pelos queijos para a veiculação de probióticos e o queijo Prato ser um queijo amplamente consumido no Brasil, neste estudo foi avaliado o efeito da adição das culturas probióticas de *L. acidophilus* La-5 e

Bifidobacterium Bb-12 separadamente ou juntas, sobre o desenvolvimento da maturação, a viabilidade dos micro-organismos e as características físico-químicas e sensoriais do queijo Prato probiótico tipo lanche. Avaliou-se também, o efeito da matriz queijo sobre a viabilidade dos micro-organismos probióticos durante a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Probióticos

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Os benefícios à saúde atribuídos aos probióticos foram sugeridos pela primeira vez no início do século 20 pelo cientista russo Eli Metchnikoff, que atribuiu a longevidade dos camponeses da Bulgária ao consumo de leite fermentado contendo bactérias ácido lácticas, as quais, possivelmente, modificavam a microbiota intestinal substituindo ou reduzindo os micro-organismos nocivos por micro-organismos benéficos (VASILJEVIC e SHAH, 2008; CULLIGAN et al., 2009).

De acordo com a FAO/WHO (2002), alguns critérios devem ser atendidos para o micro-organismo ser considerado probiótico, como identificação a nível de gênero, espécie e estirpe, produção de substâncias antimicrobianas, segurança para alimentos e uso clínico, sobrevivência durante a passagem gastrointestinal, adesão a mucosa intestinal, capacidade de colonizar o intestino, inibição de bactérias patogênicas, comprovação dos benefícios a saúde documentados e validados e estabilidade durante o processamento e armazenamento.

Os benefícios à saúde atribuídos ao consumo dos probióticos têm sido evidenciados em inúmeros estudos para a aplicação em humanos como, redução dos efeitos indesejáveis de indivíduos intolerantes a lactose (LOMER et al., 2008), aumento da biodisponibilidade de minerais (GRIFFIN et al., 2002), modulação do sistema imunológico (GALDEANO e PERDIGÓN, 2004; PALOMAR et al., 2014), prevenção e combate a diarreia (McFARLAND et al., 2006), prevenção de câncer de cólon (ZHU et al., 2011) e redução do colesterol sérico (OOI e LIONG, 2010). Além disso, Makinen et al. (2012) relatam que a combinação de diferentes micro-organismos pode potencializar os efeitos benéficos.

O efeito dos probióticos sobre a saúde humana tem gerado grande interesse das indústrias de alimentos, uma vez que representam um forte nicho de mercado entre os alimentos funcionais (STANTON et al., 2001). Inúmeros produtos probióticos contendo cepas específicas têm sido desenvolvidos em diferentes formulações, como produtos

lácteos fermentados (OLIVEIRA et al. 2001; DONKOR et al., 2007), sorvetes (AKIN et al., 2007), chocolates (POSSEMIERS et al., 2010), vegetais (LAVERMICOCCA et al., 2005) e bebidas (SHIMAKAVA et al., 2003). No entanto, para conferir seus benefícios, a população mínima de probióticos no produto final deve ser de 10^6 UFC (unidades formadoras de colônia) por grama do produto (KARIMI et al., 2012). A legislação brasileira estabelece que a quantidade mínima viável na porção diária do produto deve estar situada entre 10^8 e 10^9 UFC e no rótulo do produto deve ser declarado a população e espécie dos micro-organismos probióticos (BRASIL, 2008). Os micro-organismos permitidos como probióticos no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* variedade *rhamnosus*, *Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008), sendo que os principais micro-organismos aplicados e estudados são os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

Os *Lactobacillus* pertencem ao grupo de bactérias ácido lácticas (BAL) e são Gram positivos, catalase negativos, anaeróbios facultativos, não esporulam, apresentam-se na forma de bacilos ou cocobacilos e são encontrados em ambientes ricos em carboidratos (VASILJEVIC e SHAH, 2008). Este é o gênero mais numeroso, composto por 106 espécies que se encontram divididos em obrigatoriamente homofermentativos, heterofermentativos obrigatórios e heterofermentativos facultativos (GOMES e MALCATA, 1999; VÁSQUES et al., 2005; VASILJEVIC e SHAH, 2008). Apesar de apresentar uma gama de espécies, as comumente isoladas do organismo humano são *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. reuteri* e *L. brevis*, sendo que as espécies extensivamente estudadas em relação as propriedades funcionais e de segurança são *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *L. johnsonii* (VASILJEVIC e SHAH, 2008).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* de forma geral são bastonetes podendo apresentar uma bifurcação em sua extremidade, Gram positivas, anaeróbias, catalase negativas, não esporulam, não apresentam motilidade e, apresentam uma via metabólica especial, permitindo-lhes produzir ácido acético, além de ácido láctico na proporção molar

de 3:2 (BALLONGUE, 2004; VASILJEVIC e SHAH, 2008). Devido à sua natureza fastidiosa, essas bactérias são muitas vezes difíceis de isolar e cultivar em laboratório e seus requerimentos nutricionais são estirpe dependentes (GOMES e MALCATA, 1999; BALLONGUE, 2004; VASILJEVIC e SHAH, 2008). Este gênero apresenta 32 espécies descritas, sendo que as comumente isoladas de humanos são: *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. catenulatum*, *B. dentium*, *B. infantis*, *B. longum* e *B. pseudocatenulatum* (VASILJEVIC e SHAH, 2008).

No processo de seleção de um micro-organismo probiótico os aspectos de funcionalidade, segurança e características tecnológicas são importantes requisitos a serem avaliados para aplicação do uso em humanos (SAARELA et. al., 2000). A resistência entérica é um dos requisitos a ser avaliado para que o probiótico exerça sua funcionalidade, uma vez que o ambiente intestinal age como uma barreira física a esses micro-organismos, ocasionando perda significativa na viabilidade (KAILASAPATHY, 2002).

2.2 Sobrevivência entérica

O trato gastrointestinal representa uma barreira aos micro-organismos probióticos, que devem resistir ao suco gástrico, à bile e à secreção pancreática, mantendo-se viáveis para colonizar o intestino e promover seu efeito benéfico (DEL PIANO et al., 2006).

Algumas estirpes de lactobacilos e bifidobactérias são sensíveis ao ácido e sais biliares, características que representam um desafio à indústria para a utilização dessas bactérias. O pH do suco gástrico puro varia de 1,3 a 2,5, mas a capacidade tampão dos alimentos quando ingeridos pode elevar temporariamente para 4,5 a 5,3 e proteger os micro-organismos probióticos de valores de pH extremos, da ação da bile e da secreção pancreática (CHARTERIS et al. 1998; HANSEN et al., 2002; KONG e SINGH, 2008).

O suco gástrico é o maior obstáculo para os probióticos, sendo os principais componentes da secreção gástrica, o ácido clorídrico (HCl) e a pepsina. O baixo pH do estômago e a ação antimicrobiana da pepsina representam uma barreira eficaz à entrada de bactérias no trato intestinal (KONG e SINGH, 2008). Os sais biliares e a pancreatina também são uma barreira para os micro-organismos podendo ser responsáveis por mais de

35% da perda de sua viabilidade (DEL PIANO et al., 2006).

Diferentes estratégias têm sido utilizadas para obter uma maior sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato gastrointestinal, como a co-administração com prebióticos, seleção de estirpes resistentes, tecnologias de microencapsulação e o uso do alimento como matriz (VASILJEVIC e SHAH, 2008; BEDANI et al. 2013).

O alimento como matriz carreadora, especialmente os produtos lácteos, tem-se apresentado como uma boa alternativa, uma vez que são considerados sistemas ideais para a veiculação de micro-organismos probióticos por contribuírem na manutenção de sua viabilidade e por conferirem proteção durante a passagem pelo trato gastrointestinal (ROSS et al., 2002). Dentre eles, os queijos destacam-se devido a sua composição e características físico-químicas (STANTON et al., 1998; VINDEROLA et al., 2000a; BERGAMINI et al., 2009a; KARIMI et al., 2011).

Gardiner et al. (1999) avaliaram o efeito protetor da matriz do queijo Cheddar e iogurte sobre a viabilidade do *Enterococcus faecium* durante a simulação gástrica (pH 2,0) quando comparado ao micro-organismo livre durante 2 horas. O micro-organismo livre não apresentou número de células viáveis detectáveis após 8 minutos de exposição ao suco gástrico, enquanto que no iogurte foi observada uma redução de 1 ciclo logarítmico e no queijo não houve reduções da população de enterococos após 2 horas de exposição, indicando o efeito protetor da matriz láctea. Resultados similares foram obtidos por Vinderola et al. (2000a) também indicaram que a matriz do queijo Fresco Argentino conferiu maior proteção aos micro-organismos probióticos testados quando comparados aos micro-organismos livres após simulação gástrica (pH 2,0 e 3,0).

O queijo Cottage foi utilizado por Abadía-García et al. (2013) como matriz carreadora de diferentes micro-organismos probióticos durante a simulação gástrica (pH 2,0) e intestinal (bile e pancreatina, pH 8,0). Os autores observaram que após a simulação gástrica e intestinal a viabilidade dos micro-organismos *L. rhamnosus* GG, *L. casei* e cultura comercial (YO-MIX™ Danisco) adicionados separadamente nos queijos reduziu aproximadamente em 4 ciclos logarítmicos. Apesar de todos os queijos terem apresentado

uma redução similar ao final da simulação, a taxa de redução apresentou uma variação entre os micro-organismos, sugerindo que as características de resistência são estirpe dependentes.

2.3 Queijos Probióticos

A fabricação de queijos é um processo de concentração da caseína e gordura, enquanto os componentes solúveis são removidos na fase soro ou retidos na fase aquosa do queijo (WALSTRA et al., 2006). Durante a etapa de coagulação, uma diversidade de micro-organismos e enzimas ficam retidos na malha proteico-gordurosa induzindo mudanças químicas, bioquímicas e biológicas durante a maturação. A ação de enzimas e da microbiota promove transformação nos constituintes do queijo que resultam no desenvolvimento das características típicas de sabor, aroma e textura do queijo. Estas transformações são resumidamente conhecidas como glicólise, lipólise e proteólise (FOX et al., 2000; FOX e McSWEENEY, 2004).

A glicólise, ou metabolismo da lactose, é essencial na fabricação de todos os produtos lácteos fermentados. No geral a concentração de lactose residual nos queijos é baixa e esta é rapidamente metabolizada à lactato no início da maturação que subsequentemente é catabolizado por diferentes vias metabólicas. A fermentação da lactose pode originar diferentes ácidos orgânicos como, ácido láctico, propiônico, cítrico e acético, que conferem o sabor característico aos diferentes produtos lácteos fermentados, dependendo do metabolismo da cultura láctica (FOX e McSWEENEY, 2004; RODRIGUES et al., 2012).

Outro evento bioquímico que ocorre durante a maturação é a proteólise. Esta é catalisada por enzimas coagulantes (quimosina, pepsina, proteinases microbianas ou de plantas), enzimas naturais do leite (plasmina, catepsina D), enzimas de culturas *starters*, não *starters* ou culturas secundárias e proteases ou peptidases exógenas que podem ser adicionadas para acelerar a maturação. A ação destas enzimas promove a hidrólise da matriz proteica resultando na alteração da textura dos queijos e no desenvolvimento de sabor (SOUZA et al., 2001; McSWEENEY, 2004).

A introdução de qualquer outro micro-organismo pode afetar positiva ou negativamente no processo de fabricação e maturação dos queijos. No caso da adição de micro-organismos probióticos, eles participam ativamente do processo de maturação, podendo alterar as características típicas de sabor, aroma e textura do produto, devido à formação de metabólitos do processo de fermentação, tais como ácidos orgânicos, e a produção de peptidases intracelulares que podem intensificar a proteólise secundária dos queijos (VINDEROLA et al., 2000a; ONG et al., 2006; BERGAMINI et al., 2009a; 2009b). A adição de bactérias bífidas, por exemplo, pode levar ao acúmulo de ácido acético no produto prejudicando sua qualidade sensorial. Estas bactérias, que se caracterizam pela presença da enzima fosfocetolase frutose-6-fosfato, metabolizam a um mol de lactose com produção de três mols ácido acético e um de ácido láctico (BALLONGUE, 2004; CRUZ et al., 2010).

No geral, a literatura indica que os queijos são bons carreadores de probióticos, pois contribuem para a manutenção da viabilidade dos micro-organismos durante a vida de prateleira do produto e durante a passagem pelo trato gastrointestinal (STANTON et al., 1998; VINDEROLA et al., 2000a; ROSS et al., 2002; BERGAMINI et al., 2009a; KARIMI et al., 2011). Essa característica deve-se a composição físico-químicas dos queijos, como elevado pH, alto teor de proteína e gordura e ambiente anaeróbico. A incorporação de micro-organismos probióticos tem sido estudada em diferentes tipos de queijos, como por exemplo, queijo Cheddar (DINAKAR e MISTRY, 1994; DAIGLE et al., 1999; Mc BREARTY et al., 2001; ONG et al., 2006; 2007a; 2007b; ONG e SHAH, 2009; MILESI et al., 2008; SCHELLER e O'SULLIVAN, 2011); Kasar (ÖZER et al., 2008); Pategrás Argentino (BERGAMINI et al., 2006); Canestro Pugliese (CORBO et al., 2001), queijo Cottage (ABADÍA-GARCÍA et al., 2013), queijo Minas Frescal (BURITI et al., 2005); Gouda (GOMES et al., 1998) e o queijo Scamorza (ALBENZIO et al., 2013).

Ong et al. (2006) observaram um aumento da concentração de ácido acético em queijo Cheddar adicionado de *Bifidobacterium longum* 1941 e *Bifidobacterium lactis* LAFTI B94 em combinação com diferentes estirpes de lactobacilos quando comparado ao queijo controle. Outro estudo também realizado com queijo Cheddar por Scheller e O' Sullivan (2011), observou uma baixa concentração de ácido acético no queijo

adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 e *Bifidobacterium* DJO10A e no queijo controle. Os autores não avaliaram a característica sensorial, mas sugeriram que a baixa atividade metabólica e a combinação destas estirpes não alterariam a aceitação sensorial dos queijos. Corbo et al. (2001) observaram um aumento na concentração de ácido acético em queijo Canestrato Pugliese adicionado de *Bifidobacterium bifidum* Bb02 e *Bifidobacterium longum* Bb46, separadamente ou em combinação, quando comparado ao queijo controle. No entanto, na avaliação sensorial os provadores não perceberam a presença deste ácido.

O efeito da adição de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* na proteólise foi avaliado para diferentes queijos, tais como Cheddar (DINAKAR e MISTRY, 1994; DAIGLE et al., 1999; Mc BREARTY et al., 2001; ONG et al., 2006; 2007; MILESI et al., 2008); Kasar (ÖZER et al., 2008); Pategrás Argentino (BERGAMINI et al., 2006); Canestro Pugliese (CORBO et al., 2001); queijo Minas Frescal (BURITI et al., 2005); Crescenza (BURNS et al., 2012) e Fior Di Latte (MINERVINI et al., 2012). De forma geral os autores concluíram que a adição do micro-organismo probiótico pode aumentar a proteólise, afetando ou não as características sensoriais do produto.

Um aumento significativo da proteólise secundária foi observado no queijo Cheddar adicionado de um *pool* de probióticos contendo *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *B. longum* e *B. lactis* (ONG et al., 2006). Por outro lado, Dinakar e Mistry (1994) não observaram diferença na proteólise do mesmo tipo de queijo quando adicionado de apenas de *B. bifidum*. Resultados similares aos de Dinakar e Mistry (1994) foram observados por Corbo et al. (2001), que avaliaram a adição de duas estirpes de bifidobactérias ao queijo Canestro Pugliese e não observaram efeito sobre a proteólise e características sensoriais dos queijos, indicando que as estirpes de bifidobactérias são fracamente proteolíticas.

Minervini et al. (2012) observaram que a adição de probióticos no queijo Fior Di Latte apresentou uma diferença de proteólise secundária, gerando um perfil complexo de peptídeos, quando comparado aos queijos sem adição de probiótico. Na avaliação sensorial, os queijos com adição de probióticos apresentaram maior aceitação em relação ao aroma e sabor, sugerindo o papel dos peptídeos e aminoácidos no desenvolvimento das

características sensoriais dos queijos probióticos.

Bergamini et al. (2009b) observaram que a incorporação de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium lactis* separadamente ou em combinados apresentaram diferentes efeitos sobre a proteólise em queijo duro. A adição de bifidobactéria não afetou a proteólise do queijo, entretanto, o queijo adicionado de *L. paracasei* apresentou proteólise secundária menor quando comparado ao queijo adicionado de *L. acidophilus*. O queijo contendo os três probióticos combinados apresentou resultados similares ao queijo adicionado apenas de *L. acidophilus*, sugerindo que esta estirpe de lactobacilos pode ter apresentado um papel importante na proteólise secundária. Apesar da diferença de proteólise, na avaliação sensorial a intensidade de sabor entre os queijos probióticos e controle não diferiram significativamente, entretanto, os queijos adicionados de *L. acidophilus* foram significativamente mais ácidos e macios que o queijo controle.

Ong et al. (2007b) observaram diferenças na proteólise e na concentração de ácido acético em queijo Cheddar adicionado de diferentes micro-organismos probióticos. Essas diferenças afetaram positiva e negativamente as características sensoriais dos queijos. A proteólise apresentou um aumento em todos os queijos probióticos não influenciando o atributo “característico de queijo cheddar” quando comparado ao controle. No entanto, o gosto amargo foi percebido no controle e nos queijos adicionados de *Lactobacillus casei* 279 e de *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26. Com relação a concentração de ácido acético os queijos adicionados de *Bifidobacterium longum* 1941, de *Bifidobacterium lactis* LAFTI B94, de *Lactobacillus casei* 279 e de *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26 apresentaram maiores concentrações quando comparados ao queijo controle e aos queijos adicionados de *Lactobacillus acidophilus* 4962, de *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10, da combinação de BL 1941, LC 279, LA 4962 e da combinação LAFTI B94, LAFTI L26, LAFTI L10. As diferenças entre as concentrações de ácido acético dos queijos não foram sensorialmente detectadas pelos provadores. De forma geral, os queijos probióticos tiveram maior aceitação do que o queijo controle, exceto o adicionado de *Lactobacillus acidophilus* 4962 que não diferiu significativamente do queijo controle.

Outros estudos também observaram o efeito da adição de probióticos nas propriedades sensoriais de diferentes tipos de queijos e na maioria deles a adição dos probióticos não interferiram no perfil sensorial, no entanto, efeitos positivos e negativos também tem sido demonstrados dependendo de espécie e estirpe (GARDINER et al, 1998; KASIMOĞLU et. al, 2004; BURITI et al., 2005; SANTILLO e ALBENZIO, 2008).

2.4 Queijo Prato

No Brasil uma grande variedade de queijos é produzida, que reflete a nossa formação cultural, sendo que podemos encontrar queijos tipicamente brasileiros e outros trazidos ao país por franceses, dinamarqueses e italianos (FURTADO e LOURENÇO-NETO, 1994).

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, em 2011 a produção de queijos no país apresentou um crescimento de 9,3 % quando comparado ao ano anterior, totalizando uma produção de 812.638 toneladas, dos quais aproximadamente 20 % foi de queijo Prato. Com relação ao consumo de queijos no país, o queijo Muçarela foi o mais consumido, seguido do Requeijão e queijo Prato (ABIQ, 2012).

O queijo Prato é um queijo típico brasileiro, de origem dinamarquesa, semelhante aos queijos Danbo dinamarquês e Gouda holandês, porém com sabor e textura próprio (NARIMATSU et al., 2003).

O Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Prato o define como “queijo maturado que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas”. O mesmo regulamento o classifica como um queijo gordo, de média umidade e de massa semicozida. Dependendo da sua variedade este pode ser denominado como Lanche, Cobocó e Esférico ou Bola. O produto deve apresentar consistência semidura, elástica, com textura compacta e lisa, podendo apresentar pequenas olhaduras bem distribuídas. Possui coloração amarelada, com sabor e odor característicos e deve ser maturado por pelo menos 25 dias, em temperatura não superior a 12 °C (BRASIL, 1997). Embora a legislação especifique um período mínimo de maturação do queijo Prato,

tradicionalmente este queijo é curado por pelo menos 60 dias em condições controladas de temperatura e umidade, para o desenvolvimento de características sensoriais peculiares (MINUSSI et al., 1995).

O processo de fabricação do queijo Prato apresenta variações nos procedimentos que podem afetar as características do produto. Essas variações incluem o tipo de cultura láctica utilizada, o uso ou não da lavagem da massa (delactosagem), a temperatura de cozimento, o tipo de coagulante, o método de salga e o tempo de maturação (SILVEIRA, 2009). Apesar dessas variações de protocolo geral de fabricação, segundo Furtado e Lourenço - Neto (1994) o queijo Prato apresenta umidade entre 42 a 44 %, gordura de 26 a 29 %, sal variando de 1,6 a 1,9 % e pH entre 5,2 e 5,4.

2.5 Análise sensorial: Método descritivo de Perfil livre

A análise sensorial é considerada uma ciência multidisciplinar estruturada em diferentes princípios científicos relacionados a diferentes áreas de conhecimento como ciência dos alimentos, psicologia, estatística, fisiologia humana dentre outras. A partir do conhecimento da forma de produção do alimento pode-se avaliar como as características do produto podem ser percebidas pelo homem através dos órgãos do sentido como visão, olfato, paladar, tato e audição (STONE e SIDEL, 2004).

A aplicação da análise sensorial para produtos alimentícios apresenta como objetivo a busca de informações que gerem novos conhecimentos e forneça informações sobre os produtos. No desenvolvimento de produtos adicionados de culturas probióticas, tais informações se tornam cruciais. No geral as metodologias sensoriais aplicadas para produtos probióticos são testes afetivos que determinam a aceitação do produto, sem gerar maiores informações sobre o efeito da adição do probiótico e sua interação com o consumidor. Portanto, a aplicação da metodologia sensorial adequada e / ou combinação de diferentes métodos, como testes afetivos e descritivos permite a obtenção de características específicas dos produtos sendo possível realizar modificações ou não quando estas forem necessárias (CRUZ et al., 2010).

Os testes descritivos, como Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e Perfil Livre estão entre as ferramentas mais sofisticadas para análise sensorial, em comparação com os testes discriminativos, uma vez que os testes descritivos fornecem informações completas sobre o produto com base em suas semelhanças e diferenças. A partir destes dados pode-se determinar os atributos que são importantes para a aceitação (CRUZ et al., 2010).

O Perfil Livre é uma técnica de análise sensorial descritiva desenvolvida na década de 1980 por Williams e Langron (1984) com o intuito de reduzir o tempo e o custo na aplicação de outros métodos descritivos tradicionais (p.e., Análise Descritiva Quantitativa – ADQ) que exigem treinamento extensivo de provadores e terminologia descritiva consensual (JACK et al., 1993; LAWLESS e HEYMANN, 2010). Na aplicação do Perfil Livre, cada provador pode utilizar seus próprios termos descritivos, o que oferece a este método algumas vantagens, tais como, a eliminação do treinamento de equipe e da necessidade de avaliação consensual de atributos, seleção de equipe final de provadores e possíveis retreinamentos (BÁRCENAS et al., 2003; ROJAS-RUA, 2003; VERRUMA-BERNARDI e DAMÁSIO, 2004).

O desenvolvimento da terminologia descritiva no Perfil Livre é similar ao da ADQ, ou seja, apresentam-se as amostras aos pares ou tríades, solicitando aos provadores que descrevam as similaridades e diferenças entre as mesmas. Fichas descritivas individuais são criadas contendo os atributos a serem medidos em escalas lineares de 9-10 cm com os termos de intensidade, também determinados pelo provador, ancorados nos extremos (LAWLESS e HEYMANN, 2010). Dois provadores poderão avaliar o mesmo atributo sensorial usando termos distintos, porém, um mesmo descritor poderá representar sensações diferentes para dois ou mais provadores (VERRUMA-BERNARDI e DAMÁSIO, 2004).

Os dados obtidos pelo Perfil Livre são analisados estatisticamente através da Análise de Procrustes Generalizada (APG), uma técnica multivariada desenvolvida por Gower (1975) capaz de ajustar as variações do método sensorial em uma configuração consensual e que vem ganhando popularidade na área de Ciência Sensorial graças ao desenvolvimento de softwares estatísticos nos últimos vinte anos (WU et al., 2002; LACHNIT et al., 2003; ADDINSOFT, 2012). Para tanto, para cada provador é criada uma

matriz de dados sensoriais sendo que suas colunas correspondem aos atributos e as linhas às amostras. O primeiro passo da APG consiste em uma análise das amostras por provador, sendo que as mesmas representadas em um plano cartesiano a partir de combinação linear dos atributos que as descrevem. Após, as configurações individuais das amostras são agrupadas e comparadas. Nesta etapa, transformações geométricas são realizadas de forma a ajustar e igualar as configurações. As três principais transformações que ocorrem com os dados sensoriais nesta etapa da análise de forma a obter o consenso entre os julgamentos individuais são a translação, rotação e escalonamento. A translação normaliza os escores dos escores dos provadores para cada amostra, corrigindo o efeito de variação da intensidade dos atributos devida ao uso de porções diferentes da escala pelos indivíduos. A rotação corrige a variação associada às diferentes interpretações que os provadores atribuem a um mesmo descritor e o escalonamento expande ou comprime as configurações individuais (DIJKSTERHUIS e PUNTER, 1990; ROJAS-RUA, 2003). Através da APG pode-se verificar a correlação dos diferentes atributos levantados por cada provador e também avaliar na configuração consensual as principais características relacionadas ao produto por meio da quantificação da explicação das amostras em cada dimensão pela Análise de Componentes Principais (DE JONG et al., 2003).

A APG, além de sua aplicação a dados do Perfil Livre, também pode ser utilizada para avaliar a performance de equipes de provadores treinados (MEULLENET et al., 2007) e analisar dados de estudos sobre aceitabilidade de produtos com consumidores (GUERRERO et al., 1997; ROJAS-RUA, 2003).

Jack et al. (1993) avaliaram a capacidade discriminativa de 28 consumidores não treinados em relação a textura e aparência de queijo Cheddar com diferentes períodos de maturação pela análise descritiva de Perfil Livre. O vocabulário desenvolvido apresentou em média 11 termos e os resultados da análise de consenso mostraram que os provadores discriminaram as amostras em relação aos atributos estudados nos diferentes períodos de maturação.

González Viñas et al. (2001) avaliaram 5 amostras de queijo de cabra fabricados com leite cru e pasteurizado com diferentes períodos de maturação através da análise de

Perfil Livre e aceitação. Neste estudo foram recrutados 14 provadores que discriminaram as amostras em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura na boca, sabor residual e textura residual na boca pelo tempo de maturação. Os queijos com menor tempo de maturação apresentaram características de aroma e sabor mais suaves. No entanto, os queijos foram discriminados principalmente em relação a aparência (cor e aspecto superficial) que foi relacionado ao tempo de maturação dos queijos. Já os atributos de textura apresentaram uma baixa correlação com as dimensões de consenso. Em relação a aceitação, foi observado que as amostras caracterizadas de forma semelhante na análise de Perfil Livre apresentaram média global de aceitação similares.

Outro estudo que utilizou o Perfil Livre para discriminar amostras de queijo foi realizado por Verruma-Bernardi e Damásio (2004), que avaliaram duas amostras de Muçarela de búfala produzidos pelo método tradicional e acidificação direta, utilizando 10 provadores selecionados através de testes triangulares. A aplicação da técnica mostrou-se efetiva para caracterizar as duas amostras de queijo Muçarela que foram diferenciadas, principalmente, em relação a cor branca, firmeza e elasticidade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo da cultura

As culturas probióticas liofilizadas de *L. acidophilus* La-5 (Chr. Hansen, Valinhos, Brasil) e *Bifidobacterium* Bb-12 (Chr. Hansen, Valinhos, Brasil) foram reidratadas em leite desnatado reconstituído 10 % estéril, por 1 hora, sob temperatura de refrigeração (aproximadamente 7 °C) e utilizadas na fabricação dos queijos.

A cultura liofilizada tipo O, constituída de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (R 704 - Chr. Hansen, Valinhos, Brasil) foi inoculada em leite desnatado reconstituído 10 % estéril, incubada a 30 °C por 16 horas e utilizada na fabricação dos queijos.

3.2 Fabricação do queijo Prato

O fluxograma geral de processamento dos queijos Prato controle e adicionados dos micro-organismos probióticos é apresentado na Figura 1. No dia anterior a cada processamento dos queijos, 200 litros de leite cru foram tratados termicamente (68 °C / 2 minutos), resfriado a 4 °C, dividido em quatro porções de 50 litros e armazenados em câmara fria (4 ± 1 °C). Porções de 50 litros de leite foram utilizadas para a fabricação do queijo Prato de acordo com os seguintes tratamentos: 1) queijo Prato adicionado de 1 % cultura láctica tipo O (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) (queijo controle); 2) queijo Prato adicionado de 1 % de cultura láctica tipo O e de 1 % (v / v) de *L. acidophilus*; 3) queijo Prato adicionado de 1 % de cultura láctica tipo O e de 1 % (v / v) de *Bifidobacterium* Bb-12 e 4) queijo Prato adicionado de 1 % de cultura láctica tipo O e de 0,5 % (v / v) de *L. acidophilus* e de 0,5 % (v / v) de *Bifidobacterium* Bb-12. Para a fabricação dos queijos o leite foi aquecido a 35 °C, adicionado das culturas e mantido em repouso por 40 minutos. Em seguida, adicionou-se o cloreto de cálcio (250 ppm), corante urucum (80 ppm) e coagulante (Ha La 1175, Chr. Hansen, Valinhos - SP, Brasil) em quantidade suficiente para coagulação do leite em 35 minutos. O coágulo obtido foi cortado em cubos de 1 cm de aresta e mantido sob agitação durante 15 minutos. Em seguida, iniciou-se o aquecimento da massa, com aumento gradativo da temperatura (1 °C / 3 min), até alcançar 42 °C. Esta temperatura foi

mantida até que o ponto de massa fosse atingido e, após o ponto de massa, o soro foi drenado e a massa enformada em formas retangulares de 0,5 kg e prensada a 15 psi / 15 minutos, 15 psi / 15 minutos, 35 psi / 30 minutos e 45 psi / 90 minutos. Os queijos foram fermentados por 5 horas (em temperatura ambiente) e salgados em salmoura (20 %) por 10 horas (5 °C). Ao final da salga, os queijos foram secos por 48 horas (12 °C), embalados à vácuo em plástico termo encolhível e armazenados a 12 °C por 60 dias.

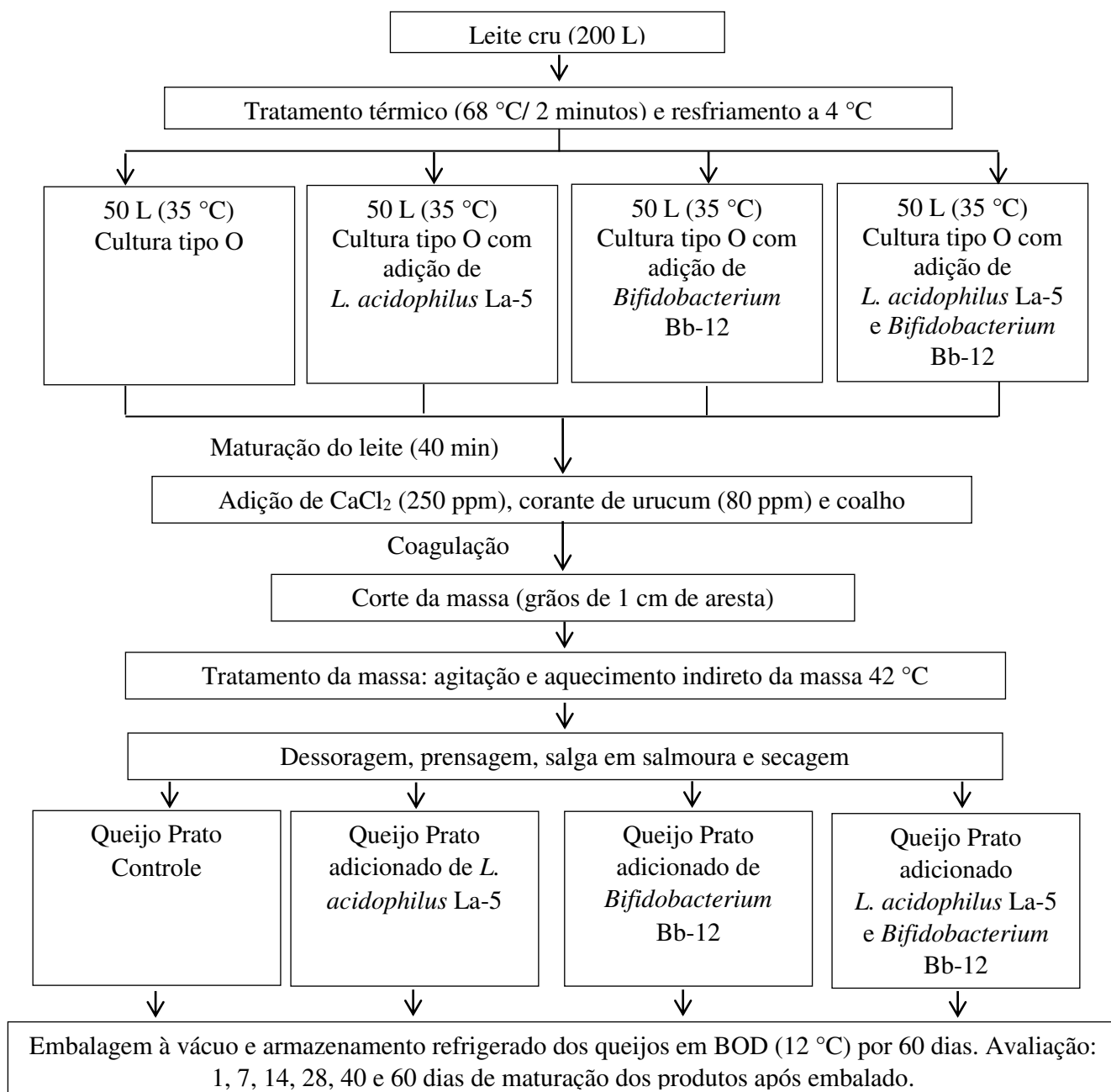


Figura 1. Fluxograma geral de processamento dos queijos Prato.

3.3 Amostragem e indicações das análises realizadas

O leite cru foi avaliado quanto a densidade, pH, acidez titulável, gordura, extrato seco total por meio da utilização do disco de Ackermman e contagem bacteriana total e psicrotróficos.

O leite tratado termicamente foi avaliado quanto ao pH, acidez, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, cinzas e contagem bacteriana total e psicrotróficos. A eficiência do tratamento térmico foi avaliada através da atividade das enzimas peroxidase e fosfatase alcalina.

As amostras de queijo foram avaliadas após 1 dia de armazenamento (24 horas após embalado) para obtenção da composição com relação ao pH, acidez titulável, gordura, umidade, cinzas, sal, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12 %.

O acompanhamento da maturação e avaliação da viabilidade dos micro-organismos nos queijos foram realizados após 1, 7, 14, 28, 40 e 60 dias de armazenamento. A maturação foi acompanhada através das análises de pH, acidez, umidade, proteólise (percentual do nitrogênio solúvel em pH 4,6 sobre nitrogênio total e do nitrogênio solúvel em TCA 12 % sobre nitrogênio total), perfil de textura e hidrólise proteica por eletroforese capilar. A contagem de micro-organismos viáveis nos queijos foi realizada por meio de contagem seletiva da cultura láctica tipo O, *L. acidophilus* La-5, *Bifidobacterium* Bb-12 e NSLAB (do inglês *non starter lactic acid bacteria*).

A avaliação da viabilidade do *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 nos queijos durante a simulação das condições gastrointestinais e avaliação sensorial foram realizadas após 28 e 60 dias de armazenamento refrigerado.

3.4 Determinações analíticas

3.4.1 Análises físico-químicas

pH: Foi determinado através da utilização de potenciômetro calibrado, com eletrodo introduzido diretamente nas amostras de leite e de queijo.

Acidez titulável: Determinada através da titulação com hidróxido de sódio 0,1 N em presença de indicador fenolftaleína. Para o leite, a amostra foi coletada e sua acidez medida diretamente. As amostras de queijo foram diluídas em água morna, homogeneizada, filtrada e titulada (AOAC, 2006).

Densidade relativa 15 °C: Foi determinada para o leite cru e tratado termicamente através de lactodensímetro com correção de temperatura (AOAC, 2006).

Peroxidase: Foi determinada segundo metodologia descrita no LANARA (1981).

Fosfatase: Foi determinada segundo metodologia descrita na AOAC (2006).

Extrato seco total (EST): Foi determinado pelo disco de Arckermann para o leite cru e tratado termicamente e o queijo determinado por secagem em estufa a 105 °C (AOAC, 2006).

Gordura: Foi determinada pelo método de Gerber para o leite e o queijo de acordo com a AOAC (2006) e British Standard Institution (1989), respectivamente;

Cinzas: Foi determinada por incineração em mufla a 550 °C para o leite e o queijo (AOAC, 2006).

Sal: Foi determinado pelo método Volhard para o queijo (RICHARDSON,1985).

Nitrogênio total (NT): Foi determinado através do método micro- Kjeldahl para o leite e macro-Kjeldahl para o queijo, de acordo com AOAC (2006). O teor de proteína total foi calculado multiplicando o NT pelo fator de conversão 6,38.

Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS-pH 4,6): Foi determinado através do nitrogênio solúvel do filtrado após a precipitação no ponto isoelétrico da caseína (pH 4,6) pelo método macro-Kjeldahl para o queijo, de acordo com Bynum e Barbano (1985).

Nitrogênio solúvel em TCA 12% (NS-TCA 12 %): Foi determinado no filtrado obtido pela precipitação proteica com ácido tricloroacético (TCA 12%), pelo método macro-Kjeldahl

de acordo com Bynum e Barbano (1985). A proteólise foi expressa com base nos valores de nitrogênio solúvel em pH 4,6 em relação ao nitrogênio total [NS pH 4,6 (% NT)] e de nitrogênio solúvel em TCA 12 % em relação ao nitrogênio total [NS TCA 12 % (% NT)].

Perfil eletroforético: O perfil eletroforético das diferentes frações proteicas da caseína foi avaliado segundo Ortega et al. (2003) e Otte et al. (1997) com modificações, utilizando o equipamento de eletroforese capilar Beckman Coulter P / ACE MDQ (BeckmanCoulter, Santana de Parnaíba, SP, Brasil) e o *software* 32 Karat (BeckmanCoulter). A separação foi realizada utilizando-se um capilar de sílica fundida de 57 cm (comprimento efetivo de 50 cm até o detector) x 75 µm (diâmetro interno). Uma amostra de 20 mg de queijo foi dissolvida em 1 mL de uma solução contendo 10 mM de fosfato de sódio, 8 M de uréia e 10 mM ditioneitol (DTT) em pH 8,0 e mantida em repouso por aproximadamente 1 hora. Após sua dissolução, a amostra foi filtrada (0,45 µm) e injetada por 5 segundos a 0,5 psi. A separação ocorreu a 18,5 kV e 23 °C e a detecção foi realizada a 214 nm durante 60 minutos. Entre as corridas, o capilar foi condicionado por lavagens seguidas de 5 minutos cada, utilizando NaOH (0,5 M), água pura e tampão de corrida (10 mM de fosfato de sódio, uréia 6 M e 0,05 % hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) com pH ajustado para 3,0).

Perfil de textura: Foi avaliado em texturômetro TA-XT2, com probe de alumínio de 35 mm de diâmetro. A velocidade do teste foi de 100 mm / minuto e compressão de 40 % da altura inicial do cilindro de queijo, com repetição em 5 segundos. Para avaliação, os queijos foram amostrados em forma de cilindros (2 cm de diâmetro e 2,4 cm de altura) com o auxílio de uma sonda de alumínio, acondicionados em sacos impermeáveis e mantidos em banho de água gelada (10 °C) por no mínimo 4 horas, para estabilização da temperatura (FOX et al., 2000; SZCZESNIAK, 2002). O teste foi realizado em octuplicata.

3.4.2 Análises microbiológicas

3.4.2.1 Definição de metodologia seletiva para enumeração de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus lactis* e NSLAB.

Para escolha da metodologia seletiva a ser utilizada, foram realizados ensaios avaliando-se diferentes meios de culturas descritos na literatura para a enumeração de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus lactis* e NSLAB.

Os meios testados para a enumeração de *L. acidophilus* La-5 foram ágar MRS adicionado de bile (IDF, 1995), ágar MRS substituindo a glicose por uma solução de sorbitol 10 % (DAVE e SHAH, 1996) e ágar MRS substituindo glicose por sorbitol (OBERG et al., 2011), incubados a 37, 37 e 45 °C, respectivamente, por 72 horas em anaerobiose. A enumeração de *Bifidobacterium* Bb-12 foi testada utilizando-se ágar MRS-NNPL (ONG et al., 2006) e ágar MRS adicionado de cloreto de lítio e propionato de sódio (VINDEROLA e REINHEIMER, 2000b) incubados a 37 °C por 72 horas em anaerobiose. Para a enumeração de lactococos foram testados ágar M17-lactose (TERZAGHI e SANDINE, 1975), incubado a 30 °C por 48 horas em aerobiose ou a 37 °C por 48 horas. A enumeração das NSLAB foi testada utilizando-se ágar MRS adicionado de vancomicina (THARMARAJ e SHAH, 2003), incubado a 37 °C por 72 horas em anaerobiose, ágar LBS (ATLAS, 2006), incubado a 30 °C por 72 horas em anaerobiose e RCA adicionado de vancomicina e verde de bromocresol, incubado a 37 °C por 48 horas em anaerobiose (DARUKARADHYA et al., 2006). Os meios de culturas e condições de incubação selecionados são descritos no item 3.4.2.2.

3.4.2.2 Avaliação microbiológica do leite e queijo

A avaliação microbiológica do leite cru e do leite tratado termicamente foi realizada segundo a metodologia descrita por Frank e Yousef (2004) para contagem padrão em placas e contagem de micro-organismos psicrotóxicos. Uma alíquota de 10 mL do leite foi transferida para um frasco contendo 90 mL de solução de água peptonada 0,1 % (p / v) e submetida a diluições sucessivas. A contagem padrão em placas foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando-se ágar padrão (PCA) e incubação a

35 °C / 48 horas. Para a contagem de psicotróficos utilizou-se ágar padrão (PCA), com plaqueamento em superfície e incubação a 7 °C / 10 dias.

Para avaliar a viabilidade dos micro-organismos, uma amostra de 25 g de queijo foi homogeneizada em sacos plásticos (Seward) com 225 mL de solução de citrato de sódio (2 %) por 10 minutos em Stomacher 400 (Seward) e submetida a diluições sucessivas em água peptonada 0,1 % (p / v).

A viabilidade do *L. acidophilus* foi determinada em ágar MRS sorbitol, substituindo a glicose por sorbitol (10 g / L), com incubação a 45 °C por 72 horas em anaerobiose (OBERG et al., 2011). A espécie de *Bifidobacterium* foi enumerada em ágar MRS-NNPL (sulfato de neomicina, ácido nalidíxico, sulfato de paramomicina e cloreto de lítio) a 37 °C por 72 horas em anaerobiose (ONG et al., 2006). O *Lactococcus lactis* foi enumerado em ágar M17-lactose a 30 °C por 48 horas em aerobiose (TERZAGHI e SANDINE, 1975). A contagem seletiva das NSLAB foi realizada em ágar RCA adicionado de verde de bromocresol e vancomicina (pH 5,5), por meio de plaqueamento em superfície, a 37 °C por 48 horas em anaerobiose. Como meio base, utilizou-se ágar RCA, com pH ajustado em 5,5 (com HCl 1 N) antes de ser autoclavado. Uma solução estoque de verde de bromocresol (0,2 % p / v) foi autoclavada e adicionou-se 20 mL / L no meio antes do uso. A solução estoque de vancomicina (2 % p / v) foi esterilizada a frio, utilizando-se uma membrana de 0,22 µm (Millipore, São Paulo, Brasil) e 0,5 mL / L da solução foi adicionada ao meio base no momento da análise (DARUKARADHYA et al., 2006).

3.5 Avaliação da viabilidade das culturas probióticas nos queijos Prato durante a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal

3.5.1 Preparo do suco gástrico e intestinal artificial e da solução de bile

Os sucos gástrico e intestinal artificiais foram preparados segundo Mozzi et al. (2009) e Picot e Lacroix (2004), com modificações. O suco gástrico artificial (SGA) foi preparado com cloreto de potássio (1,12 g / L), cloreto de sódio (2,0 g / L), cloreto de cálcio (0,11 g / L) e fosfato de potássio monobásico (0,4 g / L), sendo em seguida esterilizado a 121 °C / 15 minutos. Imediatamente antes da sua utilização, o SGA foi adicionado de

mucina (3,5 g / L) e pepsina (0,26 g / L) e o pH foi ajustado para 2,0 com HCl 1N. O suco intestinal artificial (SIA) foi preparado através da adição de solução de pancreatina ao SGA para obtenção da concentração final de 1,95 g / L. Em seguida, o pH foi ajustado para 7,0 com adição de NaHCO₃ (1N). A solução de bile foi preparada na concentração de 0,5 %, esterilizada (121 °C / 15 minutos) e seu pH ajustado para 7,0 com NaHCO₃ 1N.

3.5.2 Avaliação da viabilidade das culturas probióticas

A avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 durante simulação das condições gastrointestinais foi realizada com metodologia adaptada de Wang et al. (2009) e Buriti et al. (2010). Uma amostra de 10 g de queijo foi adicionada em erlenmeyers contendo 100 mL de suco gástrico artificial (SGA) pH 2,0, que foram incubados a 37 °C, sob agitação em banho metabólico tipo Dubnoff. Para avaliação da sobrevivência das culturas probióticas nos queijos, 10 g de queijo foram amostrados nos tempos 0, 60 e 120 minutos de exposição ao SGA. Após 120 minutos de exposição ao SGA, a solução de pancreatina foi adicionada e o pH foi ajustado para 7,0 com NaHCO₃ 1 N. As amostras foram mantidas a 37 °C por mais 300 minutos e, em seguida, uma nova alíquota foi retirada para análise da viabilidade das culturas probióticas.

A tolerância à bile foi avaliada na concentração de 0,5 %. Dez gramas de queijo foram adicionados em 100 mL de solução de bile 0,5 % (pH 7,0) e incubados a 37 °C, sob agitação, em banho metabólico tipo Dubnoff. Amostras de 10 g foram retiradas para avaliar a viabilidade das culturas probióticas após 0, 60 e 300 minutos.

3.6 Delineamento experimental e análise estatística dos dados

O experimento foi montado em esquema fatorial 4 x 6, em blocos inteiramente casualizados. O efeito do tipo de queijo (4 níveis de variação: queijo Prato controle, queijo Prato adicionado de *L. acidophilus* La-5, queijo Prato adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 e queijo Prato adicionado de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12); do tempo de armazenamento (6 níveis de variação: 1, 7, 14, 28, 40 e 60 dias), bem como o efeito da interação destes fatores, sobre as características físico-químicas dos queijos foi avaliado por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias a um nível de significância de 5 %.

O efeito dos tratamentos sobre a composição físico-química dos queijos após 1 dia de armazenamento refrigerado foi avaliado por Análise de variância (ANOVA) considerando-se apenas o tipo de queijo e os processos.

Os dados de sobrevivência durante a passagem pelo trato gastrointestinal e tolerância a bile 0,5 % para cada micro-organismo probiótico foi submetido à ANOVA a um nível de significância de 5 %, considerando os efeitos independentes do tipo de queijo probiótico e o tempo de exposição ao trato gastrointestinal ou à bile, após 28 e 60 dias de armazenamento.

3.7 Avaliação sensorial do queijo Prato pelo método de Perfil Livre

Os queijos utilizados na avaliação sensorial foram fabricados da mesma forma que descrito anteriormente.

A avaliação sensorial foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Anexo 1) e adicionalmente, antes de serem servidos aos provadores, foram avaliados conforme exigido pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) quanto à contagem de coliformes a 30 - 35 °C e a 45 °C por meio do método do número mais provável (NMP) (ISO 4831, 2006; ISO 7251, 2005), contagem de estafilococos coagulase positiva (HENNING, et al., 2004), *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1, 1996) e *Salmonella* spp. (ISO 6785 / IDF 93, 2001). Nesse caso, as análises microbiológicas para avaliar a segurança do produto foram terceirizadas e realizadas no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), localizado em Campinas, SP, Brasil.

Considerando-se que a legislação brasileira estabelece que o queijo Prato deve ser liberado para comercialização após 25 dias de maturação, optou-se por avaliar as características sensoriais dos queijos após 28 e 60 dias de armazenamento, o que representaria um produto pronto para comercialização e disponível por aproximadamente 1 mês para o consumidor. Para tanto foi utilizado o método descritivo de Perfil Livre com uma equipe selecionada de provadores.

3.7.1 Amostras

Os quatro queijos Prato tipo lanche (1- tradicional, fabricado com cultura tipo O; 2- adicionado de *L. acidophilus* La-5; 3- adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 e 4- adicionado de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12) foram servidos em porções de 20 g, à temperatura de 20 °C, codificadas com números aleatórios de três dígitos.

3.7.2 Seleção de provadores

Para a seleção de provadores, foram recrutados 20 indivíduos entre alunos e funcionários da Unicamp (Campinas, SP, Brasil) interessados em participar do estudo. Além da disponibilidade, foi avaliada a capacidade discriminatória dos candidatos através de testes triangulares em análise tipo sequencial (MEILGAARD et al, 1999). Os testes triangulares foram realizados em duas seções, com três repetições cada, em ordem crescente de dificuldade, utilizando amostras comerciais de queijo Prato tipo lanche, muçarela e queijo processado integral e light. O candidato foi considerado como um bom discriminante quando acertou 80 % nos testes triangulares. Para a avaliação sensorial dos queijos foram selecionados 13 provadores para as análises no tempo de 28 dias de armazenamento e 14 provadores para a avaliação dos queijos após 60 dias de armazenamento.

3.7.3 Levantamento de atributos

Os provadores selecionados realizaram individualmente o levantamento dos termos descritivos. Para o levantamento da terminologia descritiva do Perfil livre os provadores receberam as diferentes amostras de queijo Prato de forma monádica. A partir dos termos gerados por cada provador, foram elaboradas as fichas de avaliação individual. Os provadores realizaram um pré-teste de suas fichas individuais antes de iniciarem a avaliação final das amostras e no pré-teste puderam realizar alterações ou ajustes da terminologia descritiva, bem como das âncoras das escalas. Os termos descritores de cada provador encontram-se apresentados no Anexo 2.

3.7.4 Avaliação das amostras e análise estatística dos dados

A intensidade de cada atributo foi medida através de escala linear não estruturada de 9 cm (ABNT,1998) com termos de intensidade, definidos pelos provadores, ancorados em seus extremos. Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA-Unicamp (Campinas, SP, Brasil), que conta com cabines individuais e controle de iluminação e temperatura.

Os dados foram analisados através da Análise de Procrustes Generalizada (APG) utilizando o programa XLSTAT versão 2012 (ADDINSOFT, 2012). A APG é uma técnica estatística multivariada que compara diferentes conjuntos de dados, onde as respostas de cada provador é combinada dentro de uma matriz de dados. Uma matriz de consenso foi derivada a partir da média do conjunto de dados de todos os provadores após o redimensionamento e rotação dos dados. O consenso resultante foi traçado pela Análise de Componentes Principais, que reduz a dimensionalidade da matriz de dados com uma perda mínima das informações. A APG forneceu informações sobre a variabilidade dos dados transformados, por meio da análise das distâncias ainda existentes entre os pontos correspondentes dos produtos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização físico-química e microbiológica do leite

O leite cru atendeu aos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa n° 62 (BRASIL, 2011) que estabelece teor de gordura mínimo de 3,0 %, densidade relativa a 15 °C de 1,028 a 1,034 g / mL, extrato seco desengordurada de 8,4 %, acidez de 0,14 a 0,18 % de ácido láctico e contagem padrão em placas máxima de $6,0 \times 10^5$ UFC/mL (Tabela 1). Além disso, apresentou peroxidase e fosfatase positivas. Após o tratamento térmico observou-se a redução da contagem bacteriana total de aproximadamente 2,0 ciclos logarítmicos e a inativação da fosfatase alcalina. A inativação da enzima garante a inocuidade do leite tratado termicamente para à fabricação de queijos, conforme estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996). Do ponto de vista da composição físico-química o leite tratado termicamente apresentou composição típica e dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa n° 62 (BRASIL, 2011).

Tabela 1. Composição físico-química e microbiológica do leite cru e tratado termicamente (n=3).

Constituintes	Leite Cru	Leite tratado termicamente
Densidade relativa 15 °C (g / 100 g)	1030,5 ± 1,46	1030,5 ± 0,83
pH	6,77 ± 0,04	6,80 ± 0,02
Acidez (% ácido láctico)	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Gordura (%)	3,48 ± 0,40	3,50 ± 0,40
Extrato seco total (%)	12,21 ± 0,23	12,15 ± 0,33
Cinzas (%)	nd*	0,68 ± 0,06
Proteína total (%)	nd*	3,31 ± 0,09
Fosfatase alcalina	Positiva	Negativa
Peroxidase	Positiva	Positiva
Contagem bacteriana total (UFC / mL)	$2,34 \times 10^4$	$3,16 \times 10^2$
Contagem de psicrotróficos (UFC / mL)	$2,63 \times 10^3$	$7,59 \times 10^1$

* nd: não determinado

4.2 Caracterização físico-química e microbiológica dos queijos Prato

A composição físico-química e a viabilidade dos micro-organismos nos queijos adicionados ou não de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12, após 1 dia de armazenamento refrigerado, são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição físico-química e viabilidade dos micro-organismos nos queijos adicionados ou não de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 após 1 dia de armazenamento refrigerado (n=3).

	Queijo Prato Controle	Queijo Prato com La-5	Queijo Prato com Bb-12	Queijo Prato com La-5 e Bb-12	<i>p</i> -valor
COMPOSIÇÃO					
pH	5,06 ± 0,02	5,02 ± 0,04	5,15 ± 0,05	5,10 ± 0,11	0,768
Acidez (%)	1,20 ± 0,06	1,38 ± 0,06	1,17 ± 0,04	1,25 ± 0,16	0,331
Gordura (%)	28,08 ± 0,35	27,25 ± 0,35	28,25 ± 0,35	28,25 ± 2,94	0,959
Umidade (%)	43,44 ± 0,47	42,82 ± 1,68	43,07 ± 1,28	42,51 ± 1,51	0,853
Cinzas	4,65 ± 0,08	4,39 ± 0,02	4,46 ± 0,04	4,29 ± 0,14	0,172
Sal (%)	2,15 ± 0,11	2,20 ± 0,29	2,23 ± 0,24	2,03 ± 0,08	0,719
S / U (%) ¹	4,72 ± 0,28	4,77 ± 0,60	4,98 ± 0,69	4,55 ± 0,06	0,872
Proteína total (%)	22,61 ± 1,53	23,07 ± 0,21	23,40 ± 0,86	24,86 ± 2,38	0,483
NS pH4,6 (% NT)	6,84 ± 1,59	8,71 ± 1,07	8,41 ± 0,38	6,81 ± 0,78	0,759
NS TCA 12 % (% NT)	2,88 ± 0,94	3,56 ± 0,51	3,04 ± 0,28	3,54 ± 0,71	0,512
Firmeza (N)	22,87 ± 2,25	24,40 ± 2,09	24,74 ± 2,64	21,73 ± 2,39	0,886
VIABILIDADE (UFC / g)					
<i>Lactococcus lactis</i>	3,89 x 10 ⁹	2,45 x 10 ⁹	1,62 x 10 ⁹	2,24 x 10 ⁹	-
<i>L. acidophilus</i> La-5	< 1	4,27 x 10 ⁸	< 1	3,80 x 10 ⁸	-
<i>Bifidobacterium</i> Bb-12	< 1	< 1	7,94 x 10 ⁸ *	4,17 x 10 ⁸ *	-
NSLAB ²	1,91 x 10 ²	7,59 x 10 ²	6,03 x 10 ²	1,48 x 10 ²	-

¹ S / U: Sal na umidade; ² NSLAB: bactérias lácticas não provenientes da cultura (do inglês, *non starter lactic acid bacteria*); *n = 2.

Observa-se que os queijos não apresentaram diferença significativa em relação a nenhum dos parâmetros físico-químicos avaliados. Além disso, os teores de umidade e gordura atenderam aos padrões de identidade e qualidade do queijo Prato que é classificado como um queijo de média umidade (36 a 45,9 %) e gordo (45,0 e 59,9 % em base seca). O teor de sal dos queijos foi superior à faixa de 1,6 a 1,9 % e o pH foi inferior a faixa de 5,2 a 5,4, quando comparados a outros estudos (FURTADO e LOURENÇO-NETO, 1994; MAZAL et al., 2007; VIANNA et al. 2008; ALVES et al, 2013). O menor pH observado nos queijos deveu-se, possivelmente, à diferença no protocolo de fabricação, uma vez que os queijos produzidos por Mazal et al. (2007), Vianna et al. (2008) e Alves et al. (2013) incluíam a lavagem da massa, enquanto que o protocolo de fabricação dos queijos do presente estudo não incluiu esta etapa no processamento. A fabricação de queijo Prato em nível industrial pode ser realizada com ou sem lavagem da massa. Neste trabalho, a escolha pela fabricação dos queijos sem lavagem da massa foi baseada em testes preliminares que sugeriram maior retenção dos micro-organismos probióticos nos queijos. Em relação ao teor de sal dos queijos, o menor valor de pH, que variou de 5,02 a 5,15, possivelmente favoreceu a absorção de sal, uma vez que sua difusão é dependente do pH, ou seja, quanto menor o pH maior a absorção de sal (GUINEE e FOX, 2004).

Do ponto de vista microbiológico, após 1 dia de armazenamento refrigerado, os queijos probióticos apresentaram contagens superiores a 10^8 UFC por grama de queijo. Considerando que de acordo com a ANVISA, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo (BRASIL, 2008), e que esta recomendação no caso dos queijos é de 30 gramas (BRASIL, 2003) podemos afirmar que todos os queijos, exceto o controle, podem ser considerados produtos probióticos. Na porção de 30 gramas os queijos Prato adicionado de *L. acidophilus* La-5 ou *Bifidobacterium* Bb-12 apresentaram $1,28 \times 10^{10}$ e $2,38 \times 10^{10}$ UFC, respectivamente. Já o queijo adicionado de ambos os micro-organismos apresentou $1,14 \times 10^{10}$ UFC do *L. acidophilus* La-5 e $1,25 \times 10^{10}$ UFC do *Bifidobacterium* Bb-12.

4.2.1 Efeito dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre as características de maturação dos queijos Prato

Observa-se na Tabela 3 que os tratamentos afetaram significativamente todas as variáveis avaliadas, exceto a firmeza dos queijos, enquanto o tempo de armazenamento afetou significativamente a acidez, a proteólise [NS-pH 4,6 (% NT) e NS-TCA 12 % (% NT)] e a firmeza dos queijos. A interação entre esses fatores não afetou nenhuma das variáveis estudadas.

Tabela 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) sobre o efeito dos tratamentos, do tempo de armazenamento e a interação tratamento x tempo sobre as características dos queijos Prato.

Fatores	Valores de <i>p</i>						
	GL	Umidade	pH	Acidez (% acidez láctico)	NS-pH 4,6 (% NT)	NS-TCA 12 % (% NT)	Firmeza (N)
Tratamentos*	3	0,022	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,195
Tempo**	5	0,525	0,462	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Tratamento x Tempo	15	0,995	1,000	0,878	0,492	0,317	0,899

*Tratamentos: Queijo Prato controle, adicionado de *Lactobacillus acidophilus*, adicionado de *Bifidobacterium* e adicionado de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*.

**Tempo: 1, 7, 14, 28, 40 e 60 dias de armazenamento.

Os resultados indicaram que a umidade do queijo adicionado de *L. acidophilus* ($43,24 \pm 0,34$) diferiu significativamente da umidade do queijo adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 ($42,07 \pm 0,66$). No entanto, a umidade dos queijos controle ($42,92 \pm 0,46$) e do queijo adicionado de ambos os micro-organismos ($42,24 \pm 0,34$ %) não diferiam entre si e nem dos queijos adicionados de *L. acidophilus* ou *Bifidobacterium* Bb-12.

No que diz respeito ao efeito dos tratamentos sobre a acidez, observa-se na Figura 2a, que os queijos adicionados de *L. acidophilus* não diferiram entre si e apresentaram em média maior acidez quando comparado aos queijos controle e adicionados apenas de *Bifidobacterium* Bb-12. Possivelmente, devido ao poder tampão das proteínas, a

diferença observada para a acidez dos queijos não refletiu da mesma forma no pH, ou seja, os queijos com maior acidez não apresentaram menor pH (Figura 2b). Embora significativa, a variação de pH entre os queijos foi de 0,07 unidades, sendo que o queijo controle, o queijo adicionado de *L. acidophilus* e o queijo adicionado de ambos os micro-organismo não diferiram entre si. A diferença observada possivelmente não tem implicações importantes no produto.

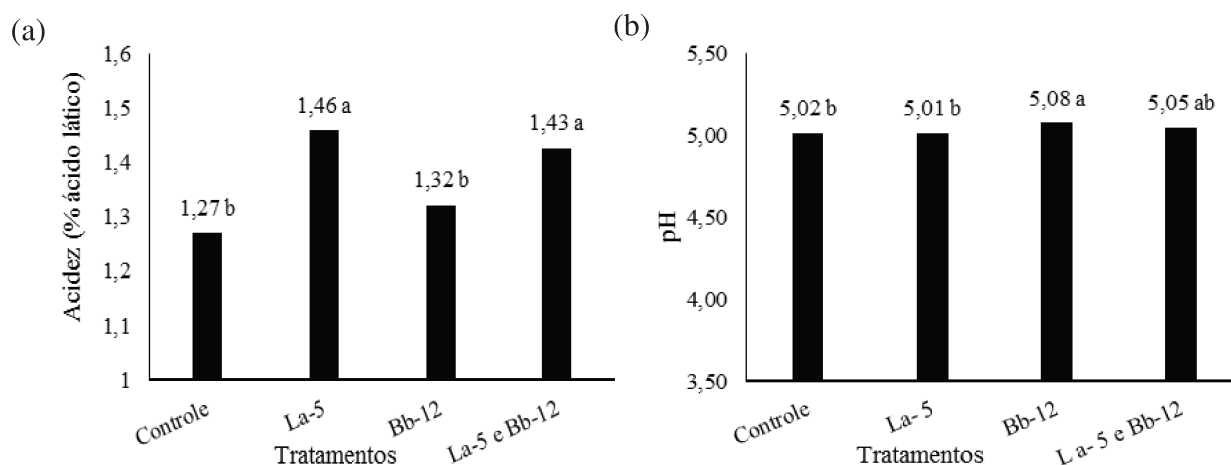


Figura 2. Efeito dos tratamentos sobre (a) acidez, expressa em % de ácido láctico e (b) pH (n=3). ^{a, b}Letras minúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Em relação ao comportamento da acidez ao longo do tempo, observa-se que independente do tipo de queijo a acidez aumentou durante o armazenamento refrigerado (Figura 3). Este aumento foi, em média, de 0,26 % de ácido láctico entre o primeiro e o último dia de armazenamento, cujos valores foram 1,27 % e 1,53 % ácido láctico, respectivamente. Apesar do teor lactose dos queijos não ter sido controlado, os resultados sugerem o consumo da lactose residual presente nos queijos, uma vez que o protocolo de fabricação utilizado neste estudo não incluiu a lavagem da massa.

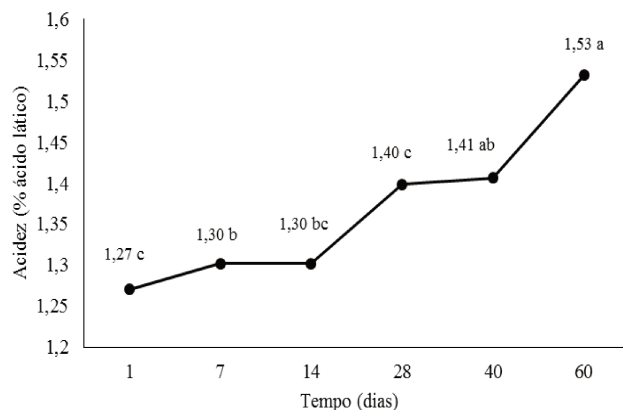


Figura 3. Efeito do tempo de armazenamento sobre a acidez expressa em % de ácido láctico (n=3). ^{a, b}Letras minúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

O efeito dos tratamentos sobre a proteólise indicou que os queijos adicionados dos micro-organismos probióticos diferiram significativamente do queijo controle, apresentando maior proteólise primária (Figura 4a). Em relação a proteólise secundária, observa-se que os queijos adicionados de *L. acidophilus* La-5 apresentaram maiores níveis de NS TCA 12 % (% NT) diferindo significativamente dos queijos controle e adicionado apenas de *Bifidobacterium* Bb-12 (Figura 4b). De forma geral, observou-se uma proteólise primária e secundária mais intensa nos queijos adicionados de *L. acidophilus*, que pode estar relacionado ao fato da produção de amino, di e tripeptidases intracelulares por estirpes de *L. acidophilus* (SHIHATA e SHAH, 2000; UPADHYAY et al., 2004). Por outro lado, a proteólise secundária no queijo adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 não diferiu do queijo controle, sugerindo a fraca atividade proteolítica da estirpe de *Bifidobacterium*, conforme apresentada por diferentes autores (CORBO et al., 2001; BOYLSTON et al., 2004; BERGAMINI et al., 2009a).

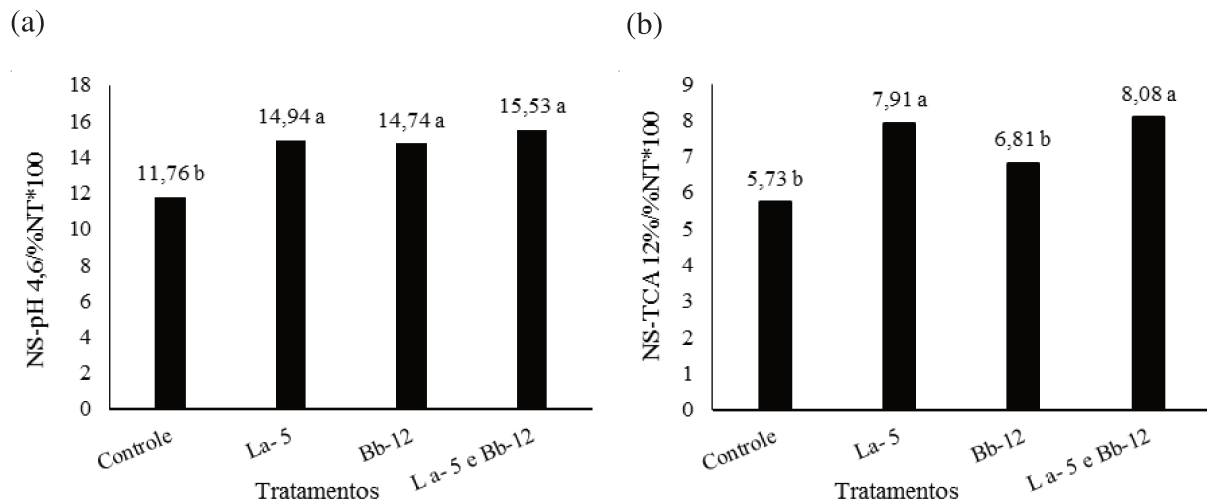


Figura 4. Efeito dos tratamentos sobre: (a) NS pH 4,6 (% NT); (b) NS TCA 12 % (% NT) na proteólise dos queijos Prato (n=3). ^{a, b}Letras minúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Durante o tempo de armazenamento, observou-se um comportamento clássico dos queijos controle e probióticos durante a maturação, o aumento das frações nitrogenadas e a redução da firmeza (Figura 5), que é dependente da ação do coagulante residual, proteinases e peptidases microbianas que promovem hidrólise da matriz proteica, hidratação da rede proteica e redução da firmeza (UPADHYAY et al., 2004).

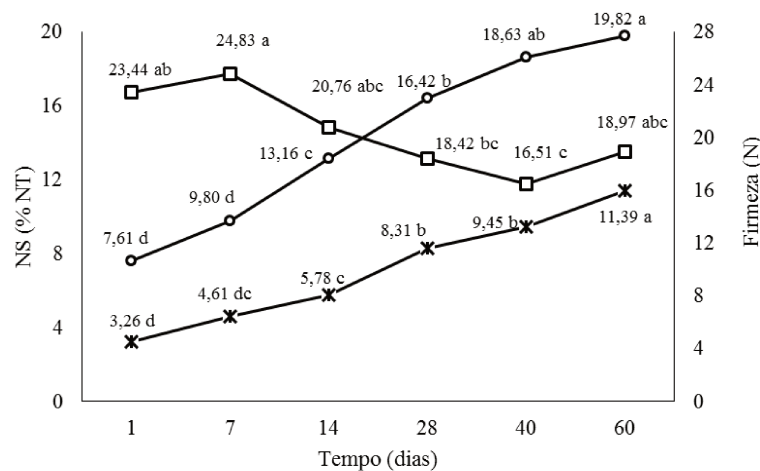


Figura 5. Efeito do tempo de maturação (dias) sobre NS pH 4,6 (% NT), NS TCA 12 % (% NT) e a firmeza dos queijos Prato adicionados ou não de micro-organismos probióticos (n=3). ^{a, b}Letras minúsculas diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

As Figuras 6, 7, 8 e 9 apresentam o perfil de hidrólise das diferentes frações de caseína dos queijos Prato controle e probióticos, obtido por eletroforese capilar. Através dos eletroferogramas capilares dos queijos durante o tempo de armazenamento, observa-se que o perfil de hidrólise das frações de caseína foi similar em todos os queijos. No primeiro dia de armazenamento, foi observada a formação da para - κ - caseína, α_{S1} - I - CN 8P e α_{S1} - I - CN 9P, produtos da degradação da κ - caseína, α_{S1} - CN 8P e α_{S1} - CN 9P, respectivamente. Além disso, também podemos observar a formação de um pico desconhecido nos queijos adicionados de *Bifidobacterium*, conforme indicado pela seta. Já no queijo controle e no queijo adicionado de *L. acidophilus*, o pico desconhecido foi formado após 7 e 14 dias, respectivamente (Figuras 6 a 9). Observa-se que após 28 dias de armazenamento, as frações de α_{S1} - CN 8P e α_{S1} - CN 9P foram praticamente degradadas em todos os queijos, indicando a ação do coagulante residual na hidrólise da α_{S1} - caseína, com a formação dos peptídeos α_{S1} -I-CN 8P e α_{S1} -I-CN 9P (Figuras 6 a 9).

Observa-se também nas Figuras 6 a 9, que as variantes genéticas de β - CN A¹ e A² sofreram uma fraca hidrólise durante o tempo de armazenamento, com formação de pequenos picos de γ - CN, sendo que nos primeiros 7 dias de armazenamento observa-se a formação do pico de γ_2 - CN. Após esse período a fração de β - CN manteve-se praticamente intacta durante todo período de armazenamento, indicando uma baixa atividade de plasmina (FOX et al., 2000).

Os resultados indicaram que a adição de diferentes micro-organismos probióticos não resultou em importantes alterações do perfil de degradação das frações de caseína e, possivelmente, não implique em diferenças sensoriais entre os produtos.

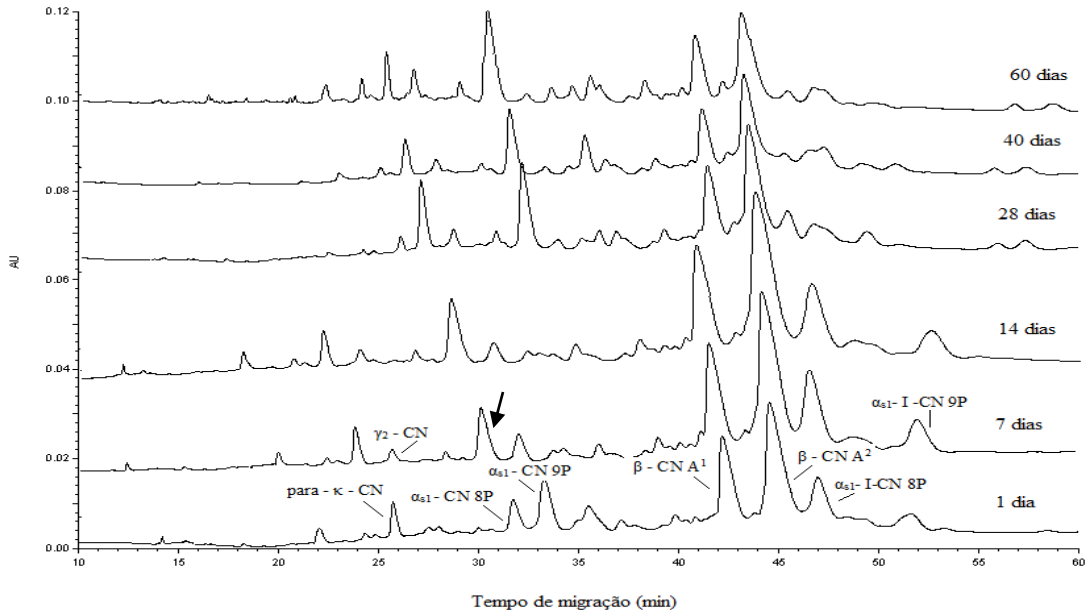


Figura 6. Eletroferograma capilar do queijo Prato controle durante o tempo de armazenamento. Identificação dos picos de acordo com Otte et al. (1997), Rehn et al. (2010) e Alves et al. (2013). AU: unidade arbitrária. Seta indica a formação do pico desconhecido.

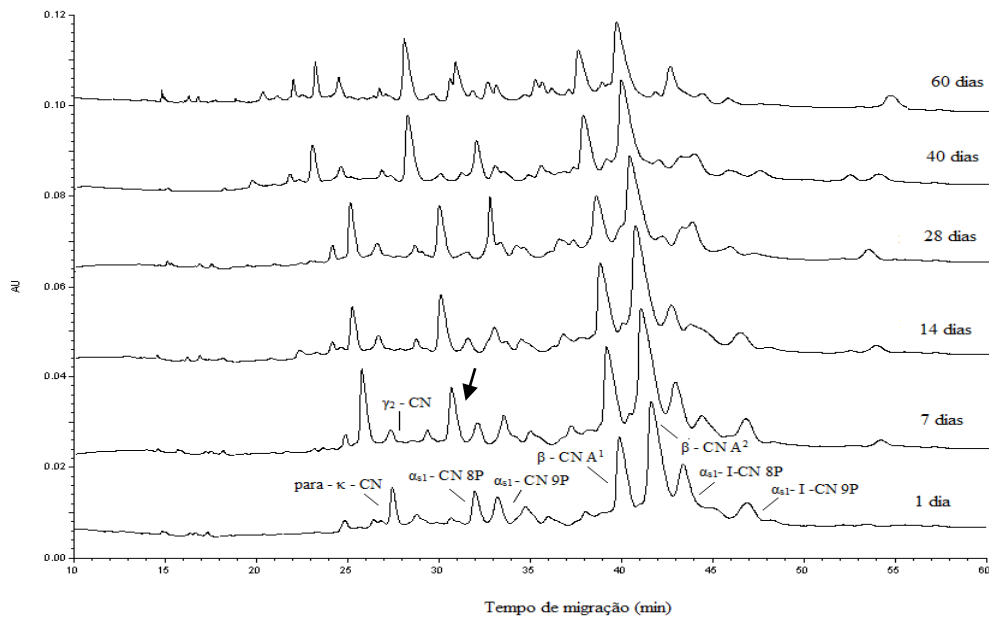


Figura 7. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante o tempo de armazenamento. Identificação dos picos de acordo com Otte et al. (1997), Rehn et al. (2010) e Alves et al. (2013). AU: unidade arbitrária. Seta indica a formação do pico desconhecido.

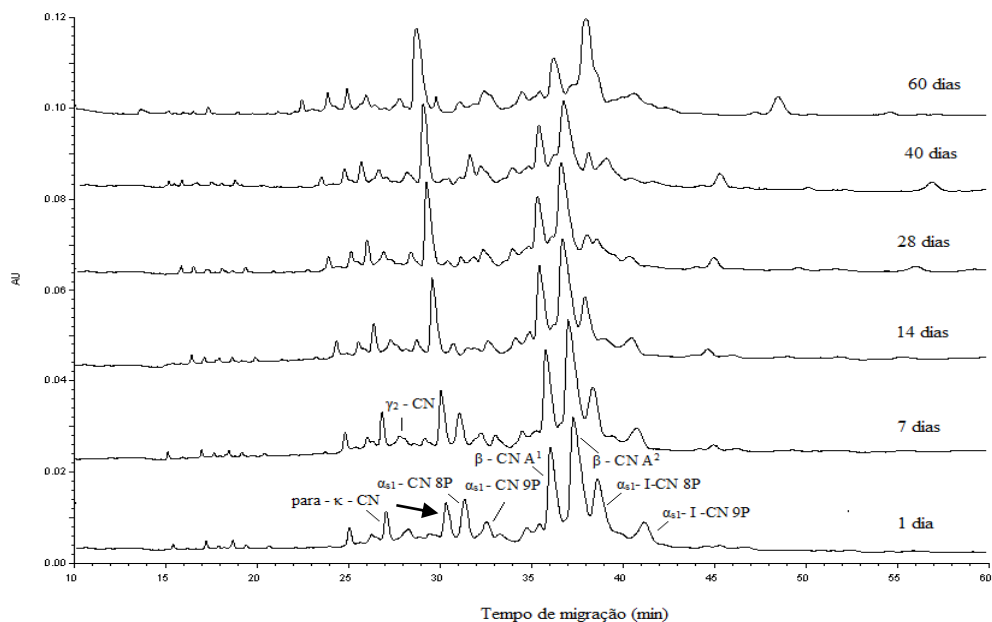


Figura 8. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de *Bifidobacterium Bb-12* durante o tempo de armazenamento. Identificação dos picos de acordo com Otte et al. (1997), Rehn et al. (2010) e Alves et al. (2013). AU: unidade arbitrária. Seta indica a formação do pico desconhecido.

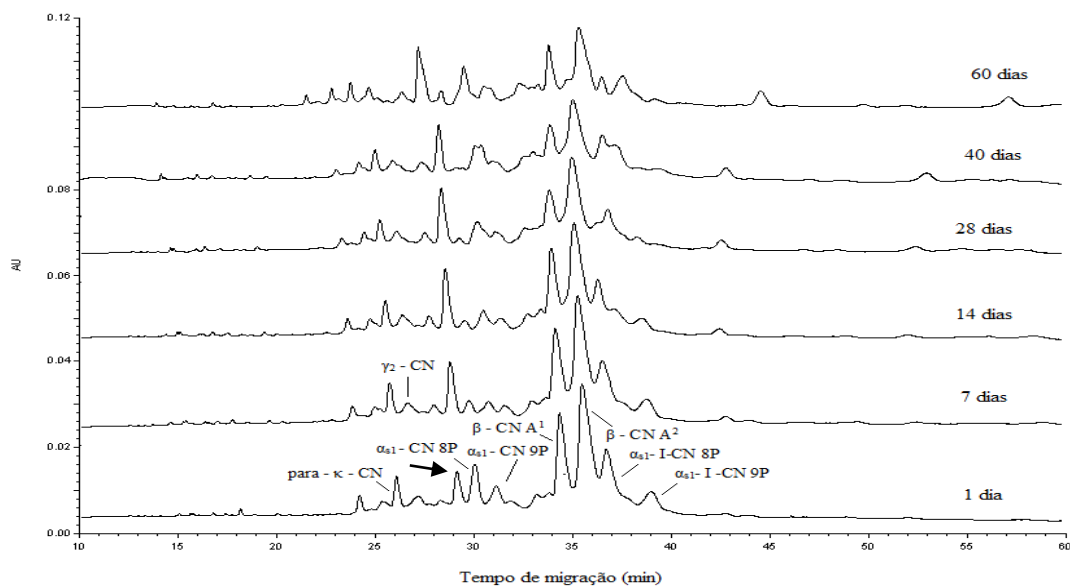


Figura 9. Eletroferograma capilar do queijo Prato adicionado de *Lactobacillus acidophilus La-5* e *Bifidobacterium Bb-12* durante o tempo de armazenamento. Identificação dos picos de acordo com Otte et al. (1997), Rehn et al. (2010) e Alves et al. (2013). AU: unidade arbitrária. Seta indica a formação do pico desconhecido.

4.2.3 Viabilidade da microbiota dos queijos Prato durante a maturação

A viabilidade da cultura láctica tipo O, constituída de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, dos micro-organismos probióticos *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 e NSLAB nos queijos Prato durante o tempo de armazenamento é apresentada na Tabela 4.

Observa-se na Tabela 4, que a população de lactococos e NSLAB nos queijos controle e probióticos apresentaram um comportamento clássico, ou seja, redução da viabilidade dos lactococos e aumento da população de NSLAB, o que sugere que a presença dos micro-organismos probióticos não afetou a viabilidade destes micro-organismos. A redução da população de lactococos nos queijos foi em média 1,06 ciclos logarítmicos, que pode ser relacionado a fatores intrínsecos dos queijos como, pH, concentração de sal e falta de carboidratos fermentáveis (FOX et al., 2000; VINDEROLA et al., 2000a; BRIGGILER – MARCÓ et al., 2007; ONG e SHAH, 2009). Em relação as NSLAB, o aumento médio da população nos queijos foi de 2,6 ciclos logarítmicos, que pode ser relacionado a capacidade de algumas estirpes sobreviverem ao tratamento térmico do leite, uma vez que o leite é a principal fonte destes micro-organismos (BERESFORD e WILLIAMS, 2004).

Tabela 4. Viabilidade dos micro-organismos nos queijos Prato durante o tempo de armazenamento (n = 3).

Tratamentos	Tempo (Dias)	Viabilidade (log UFC / g)			NSLAB*
		<i>Lactococcus lactis</i>	<i>L. acidophilus</i> La-5	<i>Bifidobacterium</i> Bb-12	
Queijo Prato controle	1	9,58 ± 0,15	< 1	< 1	2,28 ± 0,66
	7	9,56 ± 0,18	< 1	< 1	2,30 ± 0,75
	14	9,36 ± 0,13	< 1	< 1	2,87 ± 0,12
	28	8,73 ± 0,42	< 1	< 1	3,15 ± 0,33
	40	8,82 ± 0,14	< 1	< 1	2,65 ± 0,95
	60	7,86 ± 0,36	< 1	< 1	5,06 ± 0,57
Queijo Prato com La-5	1	9,39 ± 0,05	8,63 ± 0,37	< 1	2,88 ± 1,09
	7	9,40 ± 0,04	8,38 ± 0,42	< 1	2,18 ± 0,68
	14	9,38 ± 0,31	8,38 ± 0,49	< 1	2,79 ± 0,27
	28	9,18 ± 0,26	8,25 ± 0,40	< 1	3,29 ± 0,75
	40	9,13 ± 0,08	7,54 ± 0,21	< 1	3,64 ± 0,88
	60	8,90 ± 0,31	6,57 ± 0,55	< 1	4,61 ± 0,64
Queijo Prato com Bb-12	1	9,24 ± 0,12	< 1	8,90 ± 0,62**	2,78 ± 1,03
	7	9,33 ± 0,10	< 1	8,00 ± 0,69**	2,81 ± 0,30
	14	9,32 ± 0,22	< 1	8,60 ± 0,24**	3,63 ± 1,54
	28	8,73 ± 0,51	< 1	8,02 ± 0,27	4,11 ± 0,46
	40	8,91 ± 0,19	< 1	7,36 ± 0,47	4,39 ± 0,95
	60	8,39 ± 0,33	< 1	7,18 ± 0,56	6,04 ± 0,69
Queijo Prato com La-5 e Bb-12	1	9,38 ± 0,07	8,58 ± 0,93	8,62 ± 0,30**	2,17 ± 0,15
	7	9,36 ± 0,05	8,36 ± 0,48	7,82 ± 0,74**	2,43 ± 0,24
	14	9,36 ± 0,19	8,32 ± 0,55	8,36 ± 0,21**	3,61 ± 0,40
	28	9,31 ± 0,42	8,21 ± 0,55	7,80 ± 0,44	4,43 ± 0,45
	40	9,06 ± 0,48	8,26 ± 0,74	7,70 ± 0,46	4,87 ± 1,17
	60	8,17 ± 1,01	6,93 ± 0,14	7,22 ± 0,58	4,80 ± 0,57

*NSLAB: do inglês *non starter lactic acid bacteria*

**média ± desvio padrão de duas repetições

Quanto aos queijos probióticos, observa-se que após 60 dias de armazenamento refrigerado a contagem de *L. acidophilus* La-5 adicionado separadamente ou em combinação com *Bifidobacterium* Bb-12 apresentou uma redução de 2,06 e 1,65 ciclos logarítmicos, respectivamente. Já os queijos adicionados de *Bifidobacterium* Bb-12, separadamente ou em combinação com *L. acidophilus* La-5 apresentaram reduções de 1,72 e 1,40 ciclos logarítmicos, respectivamente, da população de *Bifidobacterium* Bb-12. A redução da população dos micro-organismos probióticos nos queijos após 60 dias de armazenamento não descaracterizou o produto como um alimento probiótico, uma vez que apresentaram concentrações de células viáveis maiores que 8 ciclos logarítmicos na porção de 30 gramas de queijo (BRASIL, 2008). Estas concentrações foram de $1,12 \times 10^8$ UFC / 30 g para o queijo adicionado de *L. acidophilus* La-5, de $4,53 \times 10^8$ UFC / 30 g para o queijo adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 e para o queijo adicionado de ambos os probióticos combinados a concentração de células viáveis foram de $2,55 \times 10^8$ UFC / 30 g para o *L. acidophilus* La-5 e $3,48 \times 10^8$ UFC / 30 g para a *Bifidobacterium* Bb-12.

Os resultados sugerem que o queijo Prato foi um bom veículo para carrear probiótico e que a combinação destas estirpes probióticas nos queijos não promoveu um efeito cooperativo, antagônico ou simbiótico.

4.3 Avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 no queijo Prato durante exposição a condições que simulam a passagem pelo trato gastrointestinal

A Tabela 5 apresenta a viabilidade do *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* durante a exposição dos queijos probióticos ao suco gastrointestinal artificial após 28 e 60 dias de armazenamento refrigerado. Observa-se que a viabilidade do *L. acidophilus* e da *Bifidobacterium* não foi afetada pelos tratamentos, tempo de exposição e interação destes fatores após 28 e 60 dias de armazenamento quando expostos à simulação gástrica (pH 2,0) e intestinal (pH 7,0), sugerindo que a matriz proteico-gordurosa dos queijos conferiu um efeito protetivo aos micro-organismos as condições adversas do ambiente gástrico e intestinal (PICOT e LACROIX, 2004). Outro fator que pode estar relacionado é a

resistência intrínseca das estirpes ao meio ácido e a enzima pancreática (ABADÍA-GARCÍA et al., 2013).

Tabela 5. Viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 em log UFC / g de queijo durante a exposição dos queijos Prato probióticos ao suco gastrointestinal artificial após 28 e 60 dias de armazenamento (n = 3).

<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5					
		28 dias de armazenamento		60 dias de armazenamento	
		Tratamentos		Tratamentos	
Incubação sequencial	Tempo (min)	Queijo Prato adicionado de La -5	Queijo Prato adicionado de La-5 e Bb-12	Queijo Prato adicionado de La -5	Queijo Prato adicionado de La-5 e Bb-12
SGA (pH 2,0)*	0	6,33 ± 0,37 ^{ns NS}	6,17 ± 0,56	4,64 ± 0,08 ^{ns NS}	4,41 ± 0,99
	60	6,42 ± 0,07	6,19 ± 0,48	5,08 ± 0,25	4,59 ± 1,41
	120	6,72 ± 0,71	6,08 ± 0,09	3,87 ± 1,69	4,13 ± 1,10
SIA (pH 7,0)**	300	6,72 ± 0,45	6,66 ± 0,52	4,93 ± 1,07	4,62 ± 1,08
<i>Bifidobacterium</i> Bb-12					
		28 dias de armazenamento		60 dias de armazenamento	
		Tratamentos		Tratamentos	
Incubação sequencial	Tempo (min)	Queijo Prato adicionado de Bb-12	Queijo Prato adicionado de La-5 e Bb-12	Queijo Prato adicionado de Bb-12	Queijo Prato adicionado de La-5 e Bb-12
SGA (pH 2,0)	0	6,30 ± 0,25 ^{ns NS}	5,59 ± 0,37	4,86 ± 0,62 ^{ns NS}	4,91 ± 0,73
	60	5,99 ± 1,84	6,26 ± 0,51	5,81 ± 1,33	4,66 ± 1,67
	120	5,8 ± 2,51	5,42 ± 2,24	5,91 ± 1,62	5,66 ± 1,15
SIA (pH 7,0)	300	6,68 ± 1,29	6,53 ± 1,46	6,61 ± 1,41	5,91 ± 1,35

*SGA: Suco gástrico artificial (pH 2,0); **SIA: Suco intestinal artificial (pH 7,0);

^{ns} e ^{NS} não significativo na coluna e na linha, respectivamente, pelo teste F à 5 % de probabilidade para cada tempo de armazenamento (28 e 60 dias de armazenamento).

A Tabela 6 apresenta o efeito dos tratamentos, tempo de exposição e interação entre os tratamentos e o tempo de exposição sobre a viabilidade *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* nos queijos durante exposição à bile 0,5 % após 28 e 60 dias de armazenamento.

Em relação a viabilidade do *L. acidophilus* nos queijos durante a exposição à bile, observa-se que após 28 dias de armazenamento apenas o tempo de exposição afetou a viabilidade do micro-organismo. No entanto, após 60 dias de armazenamento nenhum dos fatores avaliados afetou a viabilidade do lactobacilo. Com relação a viabilidade da *Bifidobacterium* nos queijos durante a exposição à bile, pode-se observar na mesma tabela que após 28 dias de armazenamento apenas o tempo de exposição afetou sua viabilidade. Enquanto que, após 60 dias de armazenamento os tratamentos afetaram a viabilidade do micro-organismo. O queijo Prato adicionado apenas de *Bifidobacterium* Bb-12 apresentou maior viabilidade desta cultura (5,70 log UFC / g) quando comparado ao queijo adicionado das duas culturas probióticas (4,24 log UFC / g) (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo da análise de variância (ANOVA) sobre o efeito dos tratamentos, tempo de exposição e interação entre os tratamentos e o tempo de exposição sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* nos queijos durante exposição à bile 0,5 % após 28 e 60 dias de armazenamento.

Fatores	GL	Valores de <i>p</i>			
		<i>L. acidophilus</i> La-5		<i>Bifidobacterium</i> Bb-12	
		28 dias	60 dias	28 dias	60 dias
Tratamentos ^{1 e 2}	1	0,130	0,849	0,138	0,011
Tempo de exposição ³	2	0,040	0,295	0,008	0,052
Tratamentos x Tempo de exposição	2	0,360	0,816	0,375	0,264

¹Tratamentos: Queijo Prato adicionado de *Lactobacillus acidophilus* e queijo Prato adicionado de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*.

² Tratamentos: Queijo Prato adicionado de *Bifidobacterium* e queijo Prato adicionado de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*.

³Tempo de exposição: 0, 60 e 300 minutos.

Apesar do tempo de exposição à bile ter afetado significativamente a viabilidade do *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* nos queijos após 28 dias de armazenamento, observa-se na Tabela 7, que ao final do tempo de exposição (300 minutos), não houve diferença

significativa da viabilidade do *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* quando comparado ao tempo de exposição inicial (0 minutos).

Tabela 7. Efeito do tempo de exposição à bile 0,5 % sobre a viabilidade do *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 em log de UFC / g de queijo, após 28 dias de armazenamento.

Tempo (minutos)	28 dias de armazenamento	
	<i>L. acidophilus</i> La-5 (log UFC / g)	<i>Bifidobacterium</i> Bb-12 (log UFC / g)
0	5,29 ^b	4,89 ^b
60	6,28 ^a	6,62 ^a
300	5,77 ^{ab}	5,83 ^{ab}

^{a,b} Letras minúsculas diferentes na mesma coluna ao longo do tempo de exposição apresentam diferença significativa pelo teste Tukey (p < 0,05).

Os resultados sugerem um efeito protetivo da matriz do queijo sobre os micro-organismos probióticos durante a exposição à bile. Além disso, por se tratarem de culturas probióticas comerciais, estas podem apresentar adaptação a altas concentrações de bile ou mesmo a capacidade de desconjugar os sais biliares.

Desta forma, o queijo Prato pode ser considerado um veículo adequado para a adição de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, uma vez que a matriz proteico gordurosa dos queijos pode ter conferido proteção aos micro-organismos probióticos durante a simulação gastrointestinal e à bile.

4.4 Avaliação sensorial dos queijos Prato pelo método de Perfil Livre

O perfil sensorial dos queijos foi determinado por um grupo de provadores não treinados, mas que já possuíam experiência em testes descritivos, facilitando assim o levantamento dos termos descritores e suas definições.

O teste sensorial foi realizado após 28 e 60 dias de armazenamento refrigerado dos queijos. A Tabela 8 apresenta os termos descritores, número de citações de cada termo pelos provadores e a correlação destes com a primeira e segunda dimensão.

Tabela 8. Número de vezes que cada atributo foi citado pelos provadores¹ e número de vezes que cada atributo apresentou alta correlação ($r \geq 0,7$) com a 1^a e 2^a dimensões².

Atributos	28 dias*		60 dias**	
	Número de citações ¹	Alta correlação ²	Número de citações ¹	Alta correlação ²
Aparência				
Cor amarela / amarelo	13	7	14	10
Homogeneidade em relação a soldagem da massa / homogeneidade / homogeneidade da massa / uniformidade / olhaduras	6	6	6	4
Brilho / Opaco	6	4	6	3
Homogeneidade em relação a cor	1	1	1	1
Cremosidade aparente	1	-	-	-
Aroma				
Característico de queijo Prato / Queijo Prato / Queijo	7	6	8	7
Amanteigado / manteiga / gordura	6	5	7	5
Adocicado / doce	6	1	6	5
Leite / Leite cozido	3	2	3	2
Ácido	2	1	2	1
Gordura	1	1	1	1
Lácteo	1	1	1	1
Sabor				
Amargo / Gosto amargo	11	10	12	11
Salgado / sal / gosto salgado	9	6	10	8
Ácido / Acidez / Azedo	6	6	8	6
Suave / Característico de queijo Prato / Queijo / Queijo Prato	7	5	7	5
Manteiga	3	2	3	2
Adstringência / Adstringente	2	1	2	1
Leite / Gosto de leite	2	1	2	2
Residual ácido	1	1	2	2
Maturado	1	1	2	1
Gordura	1	1	1	1
Residual Amargo	1	1	1	1
Amendoado	1	1	1	1
Doce	1	-	1	1
Textura				
Dureza / Corpo / Maciez / Macia / Cremosidade / Firmeza	11	11	11	11
Cremosa / Derretimento na boca	3	2	3	2
Maciez / Cremosidade	2	1	2	4
Cremosa	1	1	1	-
Adesividade	1	1	1	1
Homogeneidade	1	1	1	1

*n = 13 provadores; **n = 14 provadores.

Os provadores usaram, em média, 9 termos para descrever as diferenças entre as amostras em relação aos atributos de aparência, aroma, sabor e textura. O número de termos levantados por grupo de atributos variou de 4 a 13 e o atributo sabor foi o que apresentou o maior número de descritores (Tabela 8). Considerando-se o número de citações com que cada atributo foi utilizado pelos provadores e a correlação destes em relação à primeira e segunda dimensões, podemos observar na Tabela 8 que para os dois tempos de armazenamento estudados, os atributos mais relevantes para aparência foram cor amarela, homogeneidade da massa e brilho, enquanto para o aroma, destacam-se os termos “característico de queijo Prato”, manteiga e adocicado. Para o sabor, os termos gosto amargo, gosto salgado, gosto ácido e “característico de queijo Prato” foram os mais relevantes.

Em relação ao atributo textura, o termo definido como “força necessária para comprimir um queijo entre os dentes” (FOX et al., 2000) que caracteriza a dureza dos produtos foi o que melhor descreveu os queijos Prato. No entanto, os provadores utilizaram termos diferentes, mesmo coloquiais, como por exemplo, maciez, corpo e firmeza, para definir o termo dureza, apresentando uma característica da análise de Perfil Livre que assume que os provadores não diferem na forma de perceber as características sensoriais, mas na forma de descrevê-las (BÁRCENAS et al., 2003; VERRUMA-BERNARDI e DAMÁSIO, 2004; LAWLESS e HEYMANN, 2010).

Na configuração de consenso obtida pela Análise de Procrustes Generalizada, a soma da porcentagem de explicação dos atributos avaliados foram, em média, 92,70 e 96,85 % de variabilidade respectivamente, após 28 e 60 dias de armazenamento (Figuras 10 a 17). As porcentagens de explicação podem ser consideradas altas quando comparadas a valores encontrados na literatura para queijo Cheddar, Muçarela de búfala e queijo de cabra que apresentam uma variação de 48,00, 71,81 e 91,47 %, respectivamente (JACK et al., 1993; GONZÁLEZ VIÑAS et al., 2001; VERRUMA-BERNARDI e DAMÁSIO, 2004).

Em relação ao atributo aparência, observa-se na Figura 10 que após 28 dias de armazenamento refrigerado, os queijos adicionados apenas de *L. acidophilus* e o queijo adicionado dos dois probióticos apresentaram características similares, devido à

proximidade entre as mesmas e com uma alta correlação na primeira dimensão com os atributos cor amarela e homogeneidade da massa (Tabela 9). O queijo controle e o queijo adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12, apesar de serem caracterizados pelos atributos cor amarela, homogeneidade da massa apresentaram uma baixa correlação destas características (Figura 10). O brilho foi o atributo que mais caracterizou o queijo adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12, com correlações negativas na primeira dimensão maiores que 0,7.

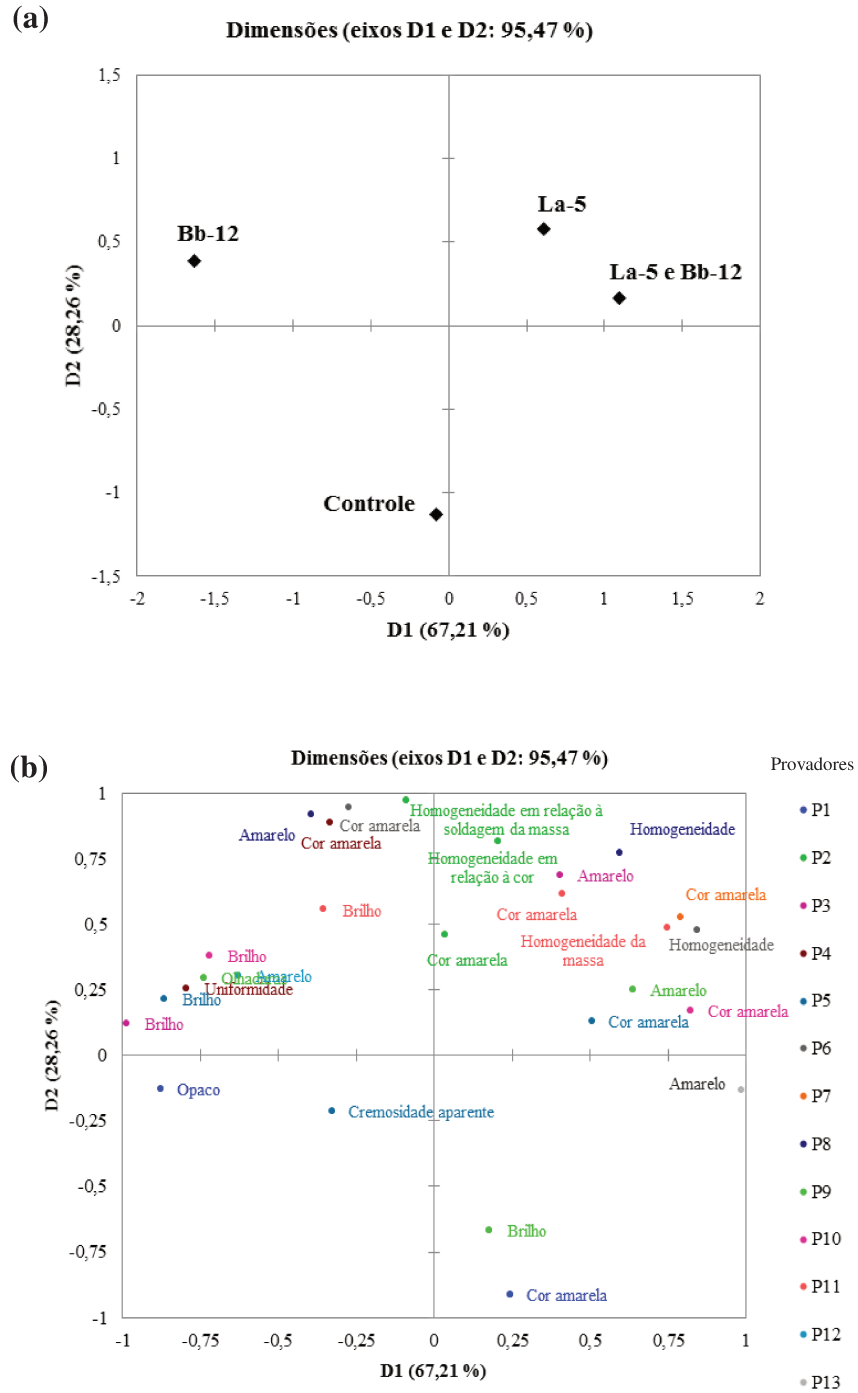


Figura 10. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo aparência: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 9. Atributos de aparência com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Opaco (-0,877)	Cor amarela (-0,913)
P2	Homogeneidade em relação à cor (0,818)	Homogeneidade em relação à soldagem da massa (0,973)
P3	Brilho (-0,986)	-
P4	Uniformidade (-0,795)	Cor amarela (0,885)
P5	Brilho (-0,867)	-
P6	Homogeneidade (0,844)	Cor amarela (0,944)
P7	Cor amarela (0,790)	-
P8	-	Amarelo (0,918) Homogeneidade (0,772)
P9	Olhaduras (-0,737)	-
P10	Cor amarela (0,824) Brilho (-0,721)	-
P11	Homogeneidade da massa (0,747)	-
P12	-	-
P13	Amarelo (0,985)	-

Após 60 dias de armazenamento, observa-se na Figura 11 que os queijos foram discriminados de forma diferente. Os queijos adicionados apenas de *L. acidophilus* na configuração de consenso distanciou-se do queijo adicionado dos dois micro-organismos probióticos, no entanto, mantiveram uma alta correlação com atributos cor amarela e homogeneidade da massa (Figura 11 e Tabela 10). Os queijos controle e adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 aproximaram-se apresentando características similares, mas mantiveram baixa caracterização em relação a cor amarela, apesar do processamento e composição dos queijos serem similares.

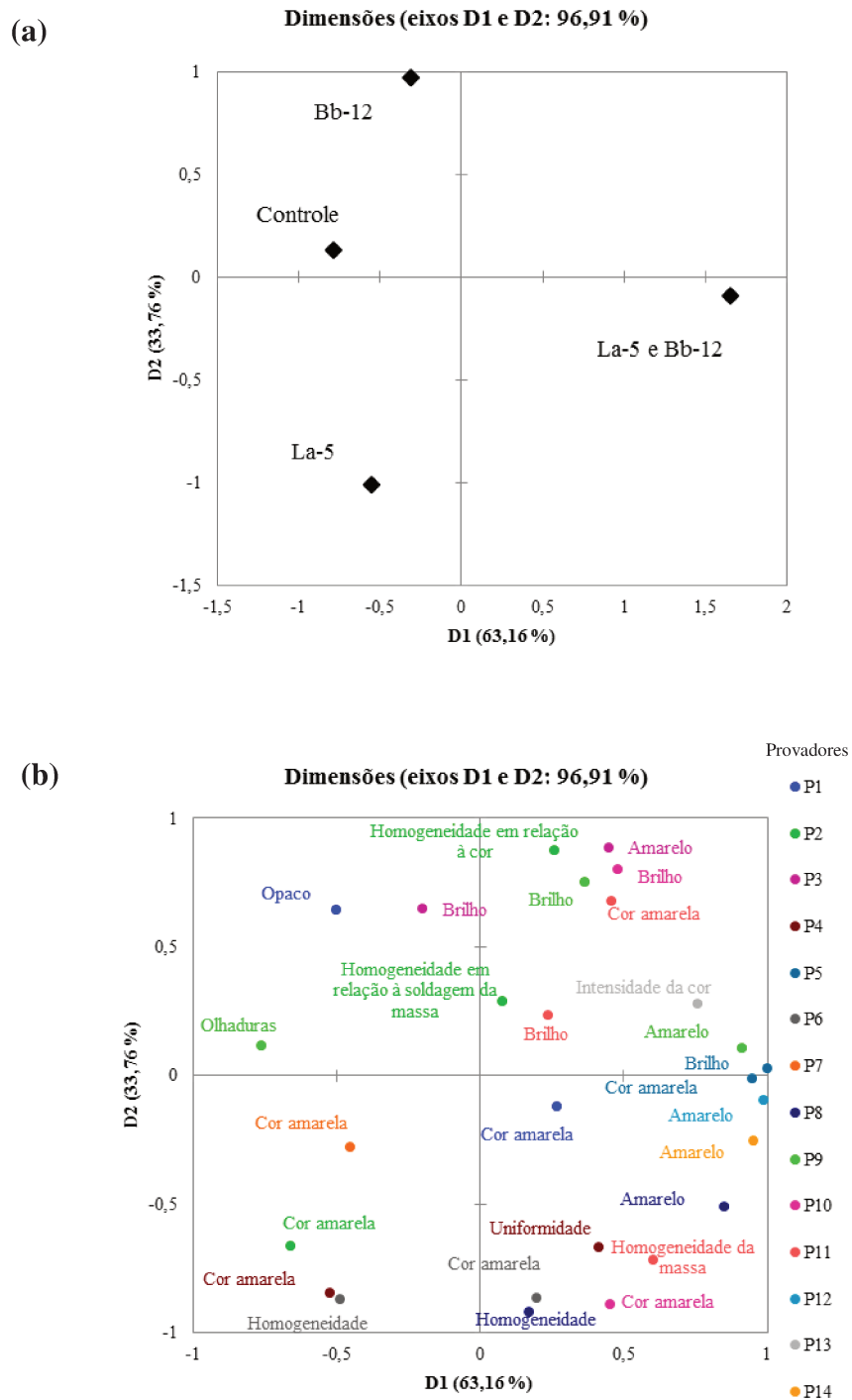


Figura 11. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo aparência: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 10. Atributos de aparência com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	-	-
P2	-	Homogeneidade em relação à cor (0,878)
P3	-	Amarelo (0,889)
P4	-	Cor amarela (-0,845)
P5	Cor amarela (0,948) Brilho (1,000)	-
P6	-	Cor amarela (0,864) Homogeneidade (0,871)
P7	-	-
P8	Amarelo (0,847)	Homogeneidade (-0,919)
P9	Amarelo (0,910) Olhaduras (-0,764)	Brilho (0,755)
P10	-	Cor amarela (0,801) Brilho (-0,890)
P11	-	Homogeneidade da massa (-0,717)
P12	Amarelo (0,988)	-
P13	Amarelo (0,953)	-
P14	Intensidade da cor (0,757)	-

Quanto ao atributo aroma, após 28 dias de armazenamento, o queijo adicionado apenas de *L. acidophilus* apresentou maior caracterização em relação aos atributos “característico de queijo Prato”, manteiga e adocicado (Figura 12). O queijo controle e o queijo adicionado dos dois micro-organismos probióticos apresentaram características similares e uma menor correlação na primeira dimensão com os atributos “característico de queijo Prato”, manteiga e adocicado (Tabela 11). Já o queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium* apresentou característica distinta dos demais queijos com baixa correlação com os atributos descritos anteriormente (Figura 12).

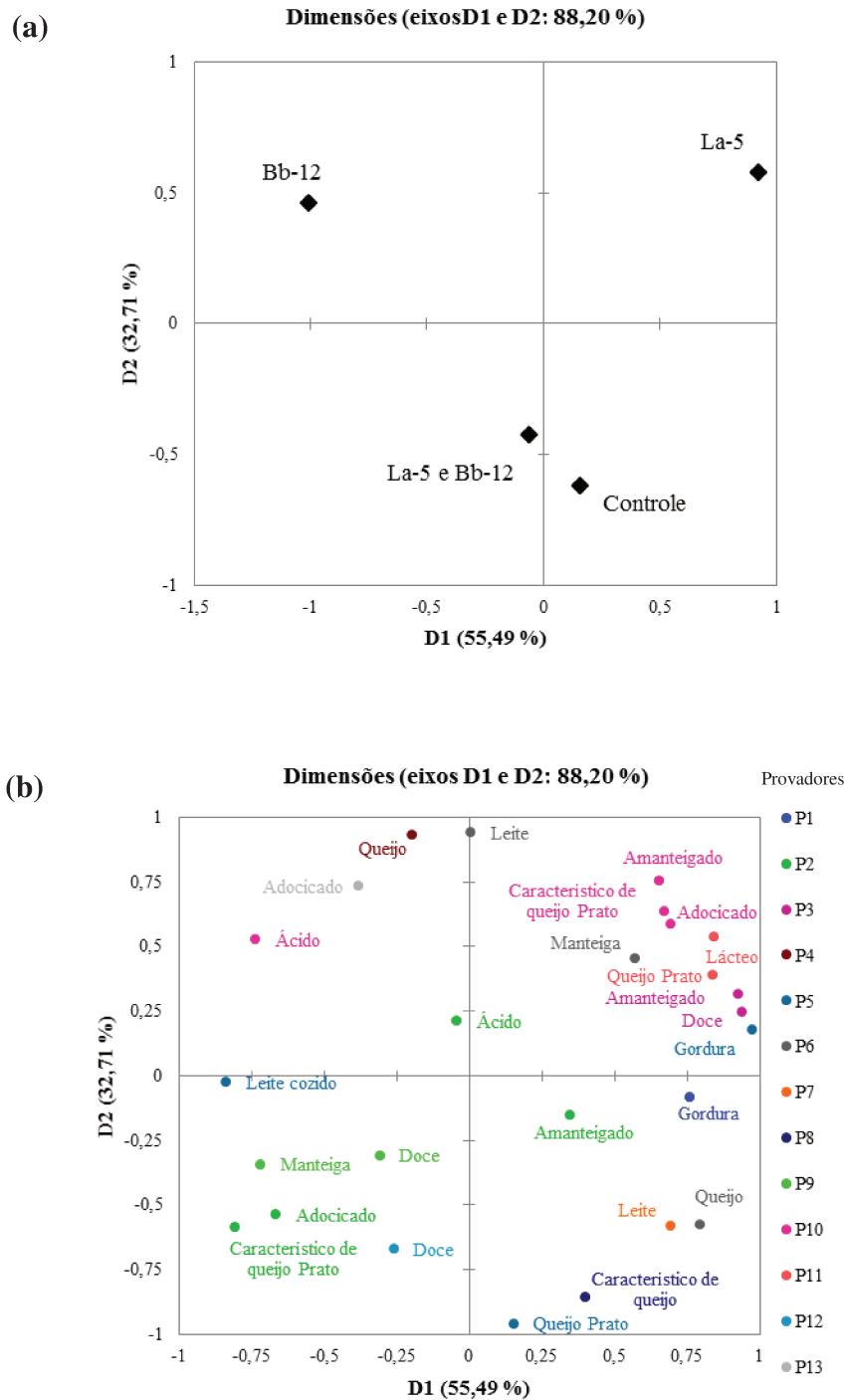


Figura 12. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo aroma: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 11. Atributos de aroma com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.

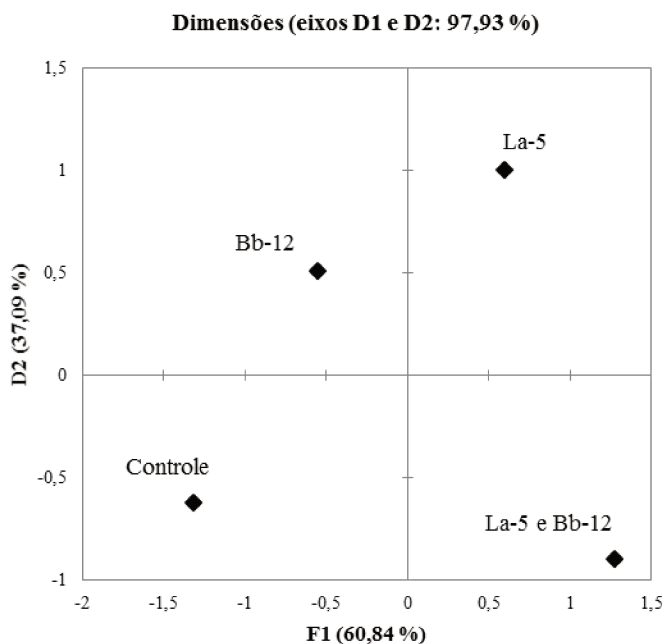
Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	-	-
P2	Ácido (0,979) Amanteigado (0,778)	Adocicado (0,719) -
P3	-	Doce (-0,939)
P4	Queijo (0,830)	-
P5	Queijo Prato (0,752) Gordura (0,899)	-
P6	Queijo (-0,718)	Manteiga (0,895) Leite (-0,856)
P7	Leite (0,980)	-
P8	-	Característico de queijo (-0,804)
P9	Manteiga (0,980) Doce (0,972)	-
P10	Ácido (-0,736) Característico de queijo Prato (0,692)	Amanteigado (0,754)
P11	Queijo Prato (0,836) Lácteo (0,841)	-
P12	-	-
P13	-	Adocicado (0,736)

O aumento do tempo de armazenamento, não alterou as características de aroma percebidas no queijo adicionado apenas de *L. acidophilus* que continuou apresentando maior caracterização dos aromas “característico de queijo Prato”, manteiga e adocicado e alta correlação na primeira dimensão (Figura 13 e Tabela 12). Por outro lado, o queijo adicionado dos dois probióticos passou a apresentar maior associação com os aromas descritos anteriormente distanciando-se do queijo controle (Figura 13 e Tabela 12). O queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium*, manteve baixa correlação com os aromas “característico de queijo Prato”, manteiga e adocicado (Figura 13 e Tabela 12).

O aroma “característico de queijo Prato” levantado pela maioria dos provadores percebido em diferentes intensidades nos queijos, encontra-se associado as diferentes proporções dos compostos voláteis, principalmente os compostos sulfurosos formados durante a proteólise dos queijos, que tem sido relacionado ao aroma característico dos queijos (YVON e RIJNEN, 2001; CURTIN e McSWEENEY, 2004). Em relação ao aroma adocicado e manteiga, atribuídos aos queijos, possivelmente encontram-se relacionados ao

metabolismo da lactose residual, citrato, lactato e catabolismo de aminoácidos (GOMES e MALCATA, 1999; SMIT et al., 2000).

(a)



(b)

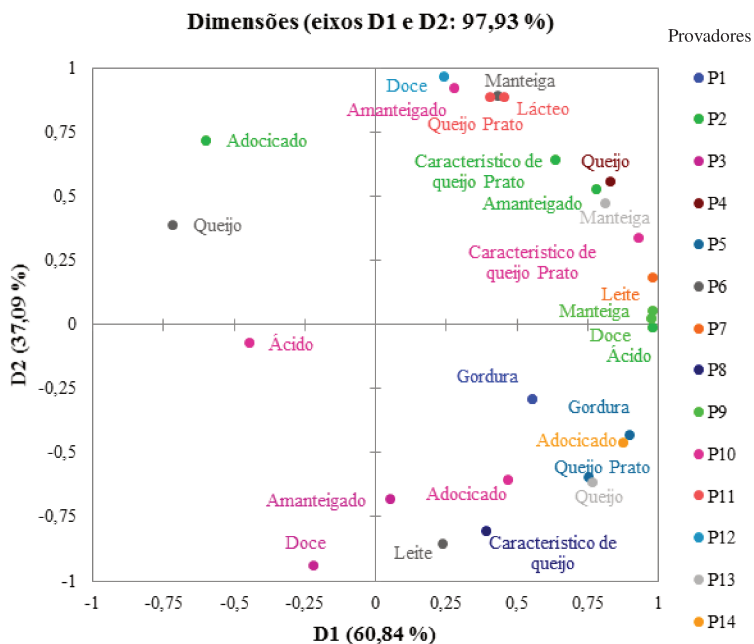


Figura 13. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo aroma: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 12. Atributos de aroma com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Gordura (0,757)	-
P2	Característico de queijo Prato (-0,809)	-
P3	Amanteigado (0,927) Doce (0,939)	-
P4	-	Queijo (0,933)
P5	Leite cozido (-0,839) Gordura (0,972)	Queijo Prato (-0,957)
P6	Queijo (0,792)	Leite (0,942)
P7	-	-
P8	-	Característico de queijo (-0,853)
P9	Manteiga (-0,718)	-
P10	Ácido (-0,736)	Amanteigado (0,754)
P11	Queijo Prato (0,836) Lácteo (0,841)	-
P12	-	-
P13	-	Adocicado (0,736)
P14	Gordura (0,757)	-

A configuração de consenso e distribuição dos termos descritores levantados pelos provadores para os atributos de sabor são apresentados nas Figuras 14 e 15. O tempo de armazenamento não conferiu mudanças na percepção dos provadores em relação aos queijos controle e probióticos. O queijo adicionado de *L. acidophilus* e o queijo adicionado dos dois micro-organismos probióticos apresentaram características similares, devido à proximidade das amostras e foram correlacionados principalmente com o atributo “característico de queijo Prato” (Tabela 13 e 14). O sabor “característico de queijo Prato” nesses queijos, pode estar relacionado a maior proteólise secundária (Figura 4b), formando peptídeos sápidos e aminoácidos (CURTIN e McSWEENEY, 2004). O queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium* também foi relacionado ao atributo “característico de queijo Prato”, no entanto, o gosto ácido apresentou-se mais relacionado a esse queijo (Tabela 13 e 14). A percepção do gosto ácido no queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium* pode estar relacionado ao metabolismo deste micro-organismo, que produz ácido acético, além de ácido láctico na proporção molar de 3:2 (GOMES e MALCATA, 1999; BALLONGUE, 2004; VASILJEVIC e SHAH, 2008). Apesar do sabor acético não ter sido percebido pelos provadores, este pode ter contribuído para o gosto ácido percebido no queijo adicionado de

Bifidobacterium. O gosto amargo foi marcadamente associado ao queijo controle durante os tempos de armazenamento. A percepção deste no queijo controle pode estar relacionado a sua menor proteólise quando comparado aos queijos probióticos (Figura 4), devido à ausência de proteinases e peptidases nas estirpes de lactococos que hidrolisam os peptídeos de gosto amargo, causando um acúmulo de peptídeos hidrofóbicos (SMIT et al., 2000; FURTADO, 2005).

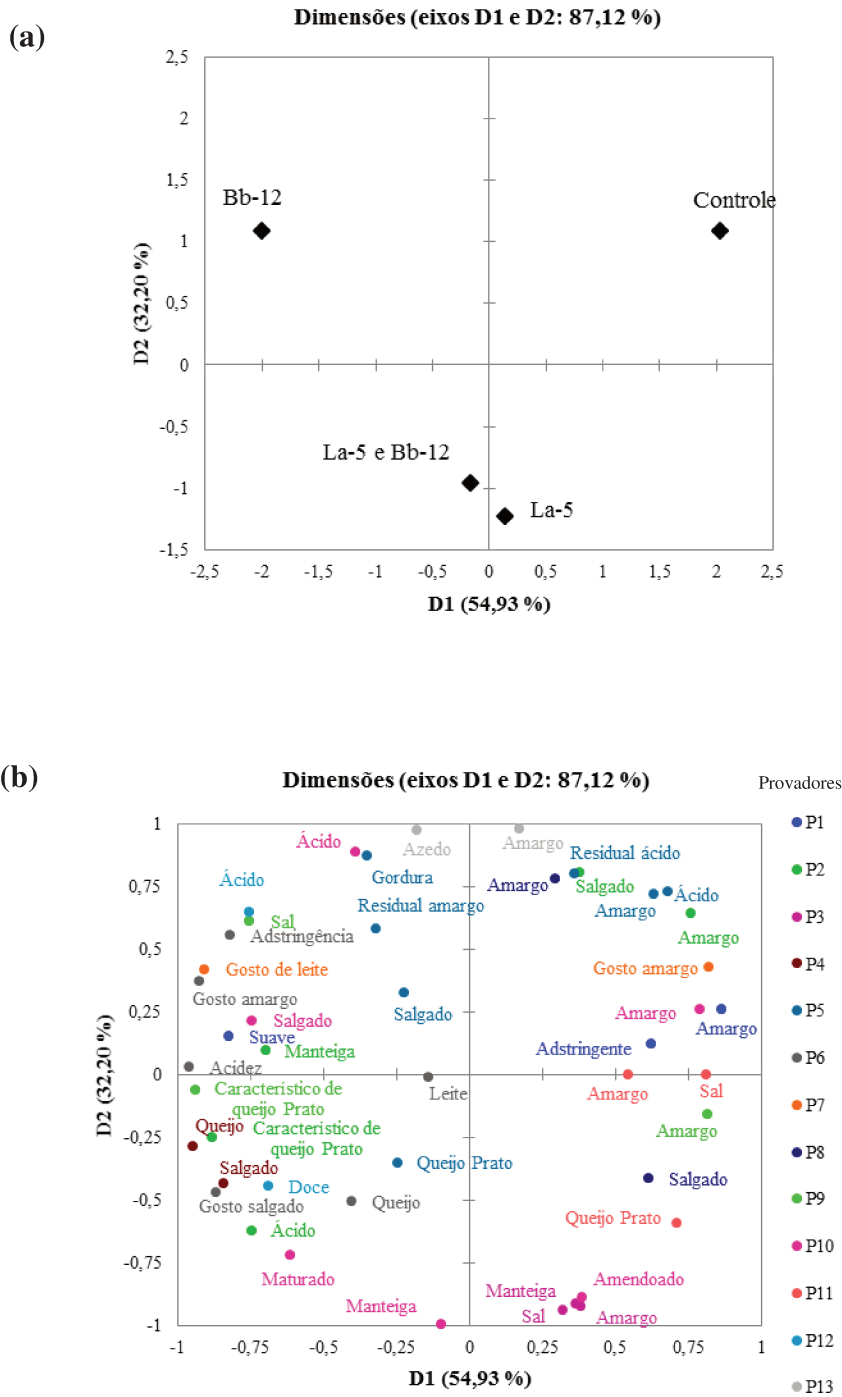


Figura 14. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo sabor: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 13. Atributos de sabor com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Amargo (0,860) Suave (-0,826)	-
P2	Ácido (-0,748) Amargo (0,755) Característico de queijo Prato (-0,883) Salgado (0,808)	-
P3	-	Amargo (-0,911) Manteiga (-0,923) Sal (-0,940)
P4	Queijo (-0,950) Salgado (-0,844)	
P5	-	Ácido (0,721) Gordura (0,876) Amargo (0,733) Residual ácido (0,803) Residual amargo (0,586)
P6	Acidez (-0,960) Adstringência (-0,821) Gosto amargo (-0,926) Gosto salgado (-0,871)	Queijo (-0,503)
P7	Gosto amargo (0,820) Gosto de leite (-0,907)	-
P8	-	Amargo (0,783)
P9	Amargo (0,815) Característico de queijo Prato (-0,940) Sal (-0,754)	-
P10	Amargo (0,786) Salgado (-0,746)	Ácido (0,892) Amendoadado (-0,886) Manteiga (-0,992) Maturado (-0,719)
P11	Queijo Prato (0,711) Sal (0,809)	-
P12	Ácido (-0,754)	-
P13	-	Amargo (0,984) Azedo (0,977)

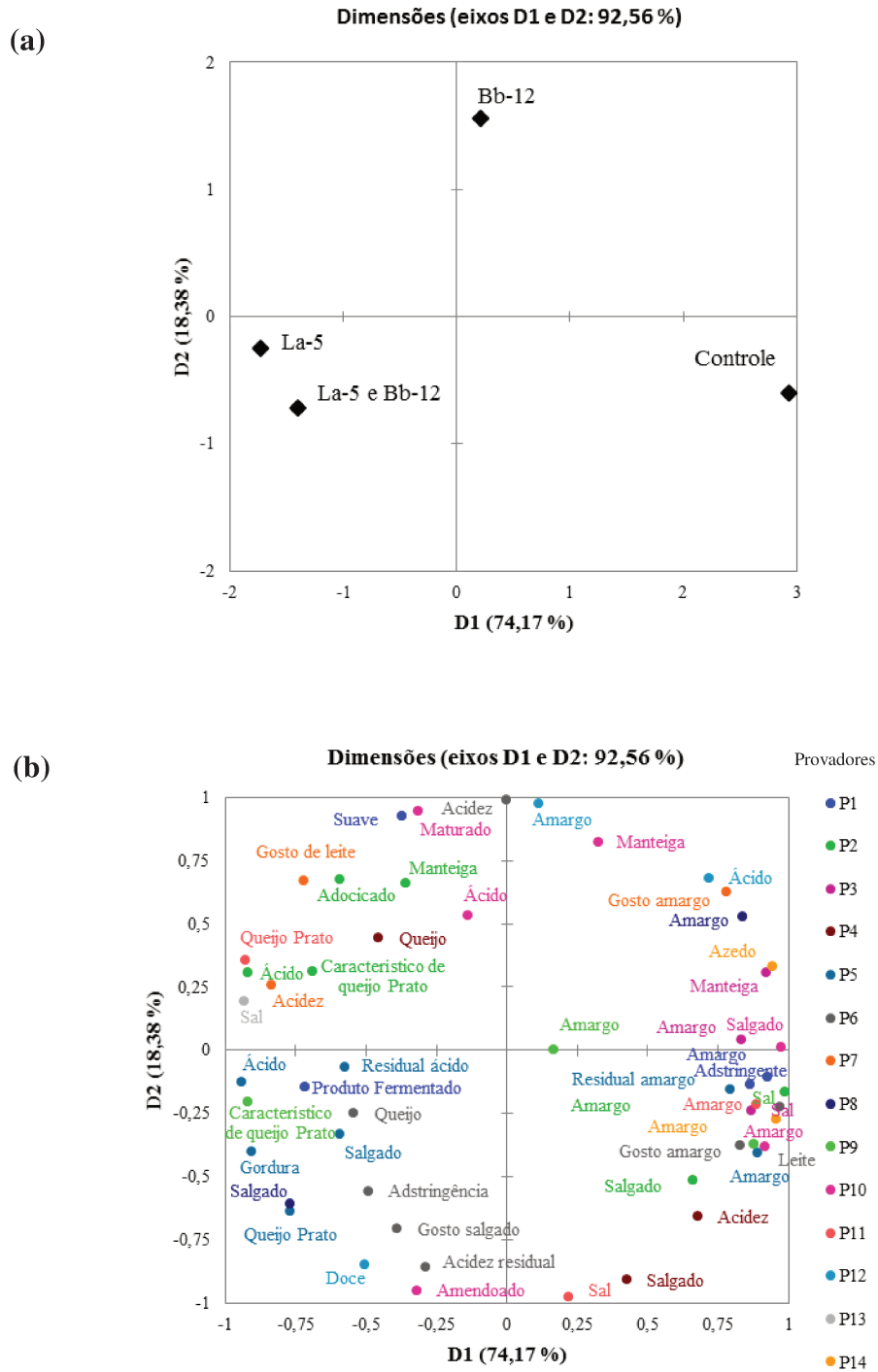


Figura 15. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo sabor: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provedores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 14. Atributos de sabor com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Adstringente (0,864) Amargo (0,926) Suave (0,926)	Produto fermentado (-0,721)
P2	Ácido (-0,921) Amargo (0,986)	-
P3	Amargo (0,831) Manteiga (0,921) Sal (0,866)	-
P4	Queijo (-0,950)	Salgado (-0,906)
P5	Queijo Prato (-0,771) Ácido (-0,945) Gordura (-0,907) Amargo (0,890) Residual ácido (-0,578) Residual amargo (0,790)	-
P6	Leite (0,969) Gosto amargo (0,826)	Acidez (0,992) Gosto salgado (-0,705) Acidez residual (-0,854)
P7	Gosto amargo (0,778) Gosto de leite (-0,725) Acidez (-0,837)	-
P8	Amargo (0,837) Salgado (-0,771)	-
P9	Característico de queijo Prato (-0,922) Sal (0,874)	-
P10	Amargo (0,917) Salgado (0,973)	Ácido (0,535) Amendoado (-0,947) Manteiga (0,826) Maturado (0,948)
P11	Amargo (0,886) Queijo Prato (-0,932)	Sal (-0,976)
P12	Ácido (0,717)	Doce (-0,846) Amargo (0,979)
P13	Amargo (0,955) Azedo (0,943)	-
P14	Sal (-0,936)	-

Em relação à textura, após 28 dias de armazenamento, o queijo controle e o queijo adicionado apenas de *L. acidophilus* apresentaram características similares e os atributos dureza e maciez foram os que melhor descreveram esses queijos (Tabela 15), enquanto que o queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium* e o queijo adicionado dos dois micro-organismos probióticos foram menos relacionados a esses atributos (Figura 16). Após 60 dias de armazenamento, o queijo adicionado apenas de *L. acidophilus* e o queijo adicionado dos dois micro-organismos probióticos aproximaram-se e foram correlacionados negativamente na primeira dimensão com dureza e maciez (Figura 17 e Tabela 16). O queijo controle e o queijo adicionado apenas de *Bifidobacterium* foram caracterizados em posição oposta aos queijos adicionados de *L. acidophilus*, apresentando altas correlações com os atributos maciez e cremosa na primeira dimensão (Figura 17 e Tabela 16).

Os resultados mostraram que a adição das culturas probióticas conferiram características de aroma e sabor típicos de queijo Prato mais pronunciadas, e que os queijos adicionados de *L. acidophilus* apresentaram características similares distanciando-se dos queijos controle e do queijo adicionado de *Bifidobacterium*, indicando que o *L. acidophilus* desempenhou um importante papel no desenvolvimento das características sensoriais do produto.

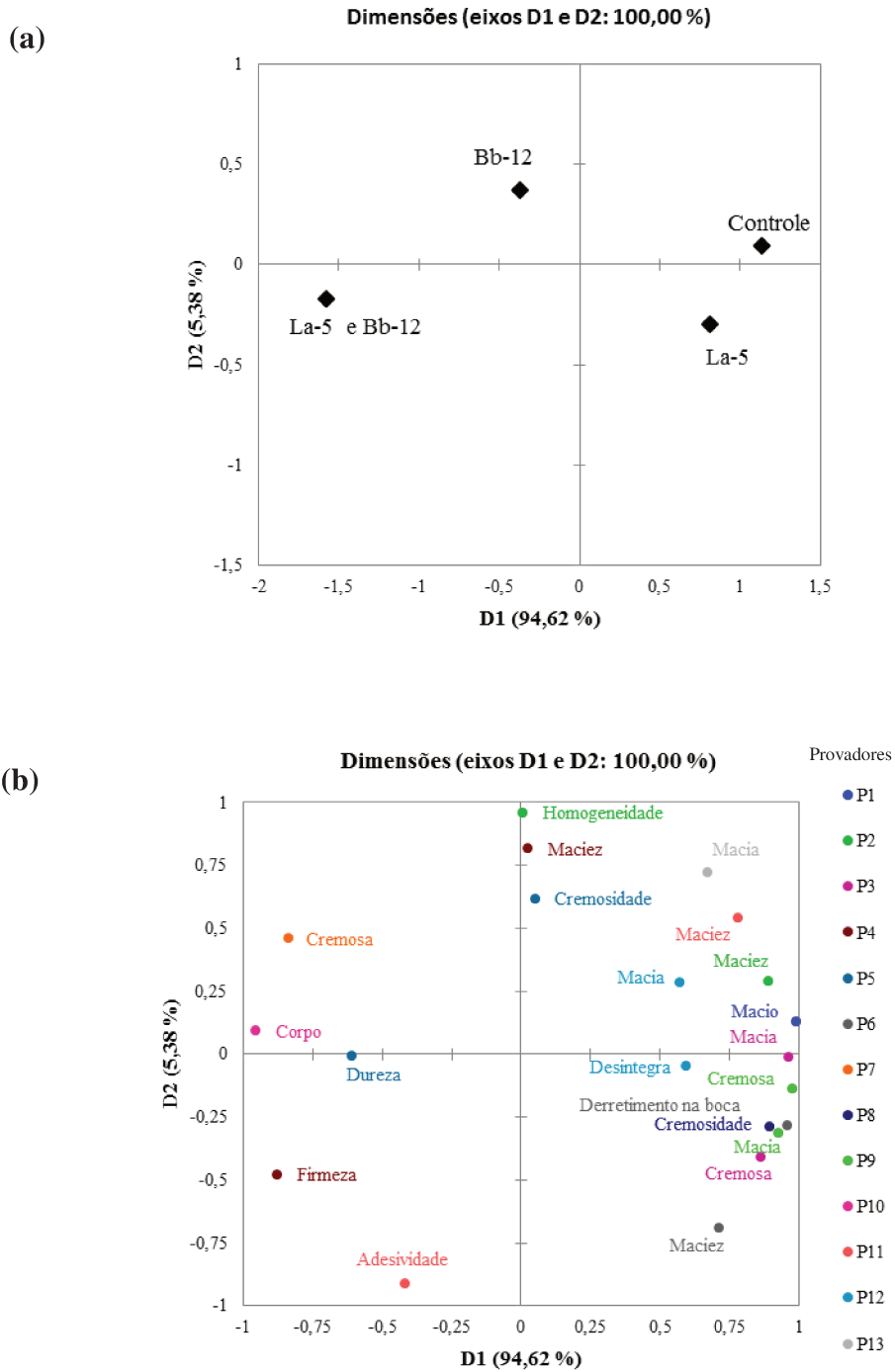


Figura 16. Perfil sensorial do queijo Prato, após 28 dias de armazenamento, em relação ao atributo textura: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provedores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 15. Atributos de textura com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 28 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Macio (0,986)	-
P2	Maciez (0,886)	Homogeneidade (0,961)
P3	Creмоса (0,859) Macia (0,959)	-
P4	Firmeza (-0,878)	Maciez (0,816)
P5	-	-
P6	Derretimento na boca (0,958) Maciez (0,710)	-
P7	Creмоса (-0,839)	-
P8	Creмосidade (0,890)	-
P9	Creмоса (0,973) Macia (0,924)	-
P10	Corpo (-0,955)	-
P11	Maciez (0,780)	Adesividade (-0,909)
P12	-	-
P13	-	-

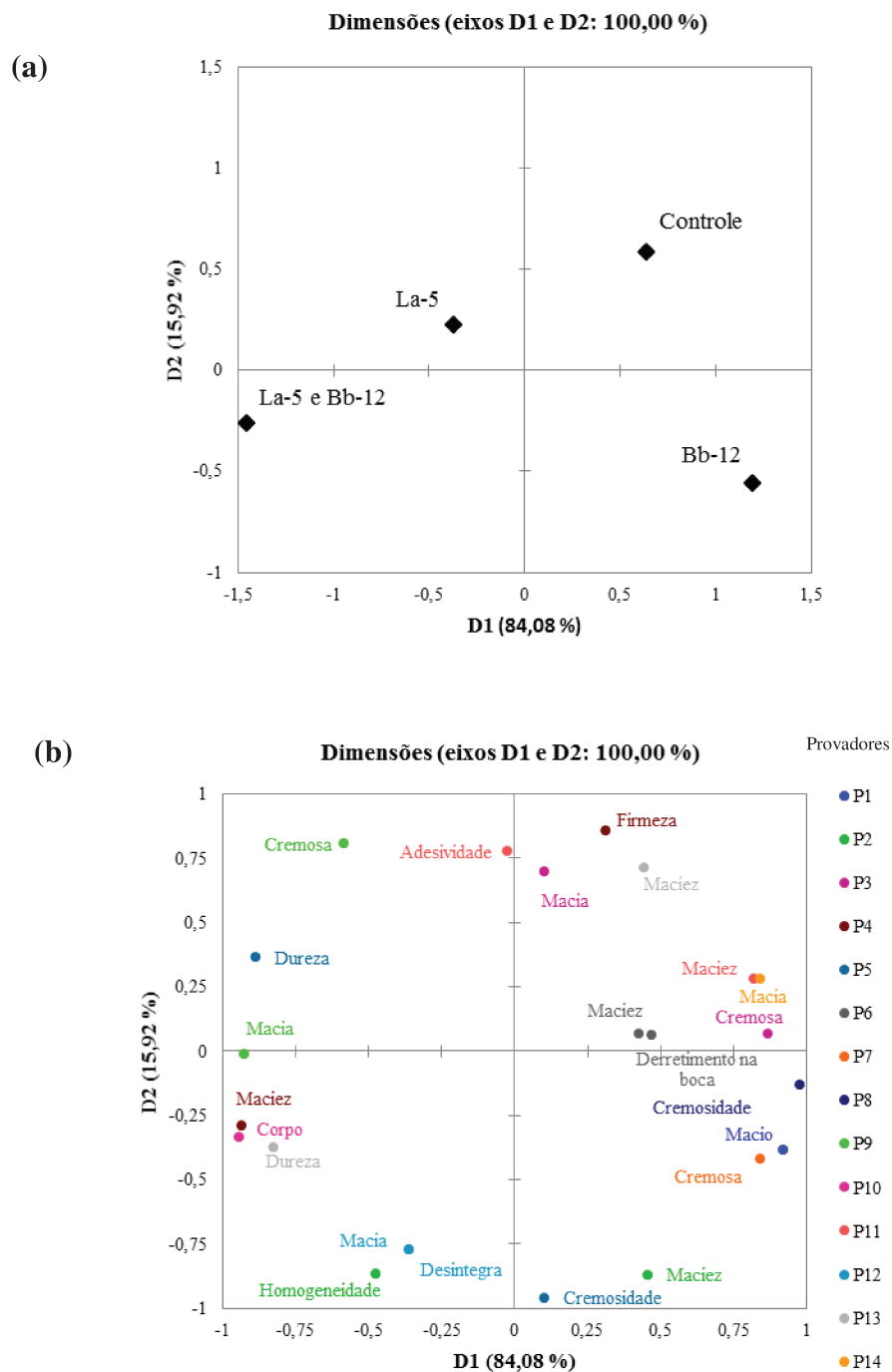


Figura 17. Perfil sensorial do queijo Prato, após 60 dias de armazenamento, em relação ao atributo textura: (a) configuração de consenso obtida na Análise de Procrustes Generalizada em relação às amostras e (b) distribuição dos atributos definidos pelos provadores nas duas primeiras dimensões.

Tabela 16. Atributos de textura com alta correlação ($r \geq 0,7$) para cada provador na primeira e segunda dimensões, após 60 dias de armazenamento.

Provador	Dimensão 1	Dimensão 2
P1	Macio (0,921)	-
P2	-	Homogeneidade (-0,862) Maciez (-0,868)
P3	Creмоса (0,868)	Macia (0,702)
P4	Maciez (-0,937)	Firmeza (0,860)
P5	Dureza (-0,888)	Creмосidade (-0,957)
P6	-	-
P7	Creмоса (0,839)	-
P8	Creмосidade (0,976)	-
P9	Macia (-0,928)	Creмоса (0,810)
P10	Corpo (-0,943)	
P11	Maciez (0,818)	Adesividade (0,779)
P12	-	Desintegra (-0,772) Macia (-0,772)
P13	Macia (0,842)	-
P14	Dureza (-0,827)	Maciez (0,714)

5. CONCLUSÃO

- A produção de queijo Prato probiótico adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12, separadamente ou juntos, mostrou-se viável, uma vez que não alterou a composição físico-química dos produtos, nem seu comportamento durante a maturação.
- A matriz do queijo propiciou a manutenção da viabilidade dos micro-organismos probióticos durante os 60 dias de armazenamento refrigerado e durante a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal.
- Os quatro tipos de queijo (Queijo Prato controle, adicionado de *L. acidophilus* La-5, adicionado de *Bifidobacterium* Bb-12 e adicionado de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12) foram diferenciados pelo método sensorial de Perfil livre e a adição dos micro-organismos probióticos conferiu um desenvolvimento de aroma e sabor característico de queijo Prato mais pronunciados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADÍA-GARCÍA L.; CARDADOR A.; DEL CAMPO S. T. M., ARVÍZU S. M.; CASTAÑO-TOSTADO E.; REGALADO-GONZÁLEZ C.; GARCÍA-ALMENDAREZ B.; AMAYA-LLANO S. L. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. **International Dairy Journal**, v. 33, p. 191-197, 2013.

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Evolução do Mercado Brasileiro de queijos, 2012.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 14141: escalas utilizadas em análise sensorial. Rio de Janeiro, 1998. 3 p.

ADDINSOFT XLSTAT. **XLStat: Software for Statistical Analysis**. versão 2012. Paris, 2012.

AKIN, M. B.; AKIN, M. S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, p. 93-99, 2007.

ALBENZIO, M.; SANTILLO, A.; CAROPRESE, M.; RUGGIERI, D.; NAPOLITANO, F.; SEVI, A. Physicochemical properties of Scamorza ewe milk cheese manufactured with different probiotic cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 2781-2791, 2013.

ALVES, L. S.; MERHEB-DINI, C.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; GIGANTE, M. L. Yield, changes in proteolysis, and sensory quality of Prato cheese produced with different coagulants. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 7490-7499, 2013.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. Washington, 2006.

ATLAS, R. M. **Handbook of Microbiological Media for the Examination of Food**. 2nd ed., 2006, 446 p.

BALLONGUE, J. Bifidobacteria and Probiotic Action. In: **Lactic Acid Bacteria – Microbiological and Functional Aspects**. SALMINEM, S.; von WRIGHT, A.; OUWEHAND, A., 3ª ed., 2004.

BÁRCENAS P.; PÉREZ ELORTONDO, F.J.; ALBISU, M. Comparison of free choice profiling, direct similarity measurements and hedonic data for ewes' milk cheeses sensory evaluation. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 67–77, 2003.

BEDANI, R.; ROSSI, E. A.; SAAD, S. M. I. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology**, v.34, p. 382-389, 2013.

BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. The microbiology of cheese ripening. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3^a ed. London, 2004, 617 p.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; ZALAZAR, C. A. Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 856-866, 2006.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; PALMA, S. B.; SABBAG, N. G. ; ZALAZAR, C. A. Proteolytic activity of three probiotic strain in a semi-hard cheese as single and mixed cultures: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 467-475, 2009a.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; CANDIOTI, M. C.; ZALAZAR, C. A. Multivariate analysis of proteolysis patterns differentiated the impact of six strains of probiotic bacteria on a semi-hard cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2455-2467, 2009b.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375-387, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria n° 146, de 07 de março de 1996, que aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 11 de março de 1996. Seção 1, página 3977. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria n° 358, de 04 de setembro de 1997, que aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Prato. **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 08 de setembro de 1997. Seção 1, página 19690. 1997.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 10 de janeiro de 2001.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. **Diário Oficial da União** em 26 de dezembro de 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/359_03rdc.pdf.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho de 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA – Instrução Normativa nº62, de 29 de setembro de 2011, que altera a IN 51 de 2002 e aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite Cru Refrigerado, do Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 29 de dezembro de 2011. Seção 1. 2011.

BRIGGILER-MARCÓ, M.; CAPRA, M. L.; QUIBERONI, A.; VINDEROLA, G.; REINHEIMER, J. A.; HYNES, E. Nonstarter *Lactobacillus* strains as adjunct cultures for cheese making: In vitro characterization and performance in two model cheeses. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4532-4542, 2007.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **Determination of fat content of milk and milk products (Gerber methods). Methods**. London: British Standard Institution, 1989. 12p.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, p.1279-1288, 2005.

BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, p. 121-129, 2010.

BURNS, P.; CUFFIA, F.; MILESI, M.; VINDEROLA, G.; MEINARDI, C.; SABBAG, N.; HYNES, E. Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. **Food Microbiology**, v. 30, p. 45-50, 2012.

BYNUM, D. G.; BARBANO, D. M. Whole milk reverse osmosis retentate for Cheddar cheese manufacture: Chemical changes during aging. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 1-10, 1985.

CHARTERIS, W. P., KELLY, P. M., MORELLI, L. AND COLLINS, J. K. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 759-768, 1998.

CORBO, M. R.; ALBENZIO, M.; DE ANGELIS, M.; SEVI, A.; GOBBETTI, M. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 551-561, 2001.

CRUZ, A. G.; CADENA, R. S., WALTER, E. H. M.; MORTAZAVIAN, A. M.; GRANATO, D.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Product Development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 358-373, 2010.

CULLIGAN, E. P; HILL, C.; SLEATOR, R. D. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. **Gut Pathogens**, 1-19, 2009.

CURTIN, A. C.; McSWEENEY, P. L. H. Catabolism of Amino Acids in Cheese during Ripening. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3^a ed. London, 2004, 617 p.

DAIGLE, A.; ROY, D.; BÉLANGER, G.; VUILLEMARD, J. C. Production of probiotic cheese (Cheddar-Like Cheese) using enriched cream fermented by *Bifidobacterium infantis*. **Journal of Dairy Science**, v. 82 p. 1081-1091, 1999.

DARUKARADHYA, J.; PHILLIPS, M.; KAILASAPATHY, K. Selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., starter lactic acid bacteria and non-starter lactic acid bacteria from Cheddar cheese. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 439-445, 2006.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1524-1536, 1996.

DE JONG, S.; HEIDEMA, J.; VAN DER KNAAF, H. C. M. Generalized Procrustes Analysis of coffee brands tested by five European sensory panels. **Food Quality and Preference**, v. 9, p. 111-114, 2003.

DEL PIANO, M.; MORELLIC, L.; STROZZI, G. P.; ALLESINA, S.; BARBA, M., DEIDDA, F.; LORENZINIB, P., BALLARÉ, M., MONTINO, F.; ORSELLO, M.; SARTORI, M.; GARELLO, E.; CARMAGNOLA, S.; PAGLIARULO, M. AND CAPURSO, L. Probiotics: from research to consumer. **Digestive and Liver Disease**, v. 38, p. 248-255, 2006.

DINAKAR, P.; MISTRY, V. V. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2854-2864, 1994.

DONKOR, O. N.; NILMINI, S. L. I.; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 657-665, 2007.

DIJKSTRHUIS, G. B.; PUNTER, P. Interpreting Generalized Procrustes Analysis “analysis of variance” tables. **Food Quality and Preference**, v. 2, p. 255-265, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Cheese rheology and texture. In P. F. FOX, T. P. GUINEE, T. M. COGAN, P. L. H. McSWEENEY (Ed.). **Fundamentals of cheese science**. Aspen, Gaithersburg: Aspen. 2000. 587 p.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. Cheese: An Overview. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3^a ed. London, 2004, 617 p.

FRANK, J. F.; YOUSEF, A. E. Test for group of microorganism. In: WEHR, H. M.; FRANK, J. F. (Ed.) **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17th ed. Washington: American Public Health Association, 2004, 570 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos**. Manual técnico para produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

FURTADO, M. M. **Principais Problemas dos Queijos: Causas e Prevenção**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005. 200 p.

GALDEANO, C. M.; PERDIGÓN, G. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 673-681, 2004.

GARDINER, G. E., ROSS, R. P.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; STANTON, C. Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. **Applied Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2192-2199, 1998.

GARDINER, G.; STANTON, C.; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1379-1387, 1999.

GOMES, A. M. P.; VIEIRA, M. M.; MALCATA, F. X. Survival of probiotic microbial in a cheese matrix during ripening: Simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. **Journal of Food Engineering**, v. 36, p. 281-301, 1998.

GOMES, A. M.P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 139-157, 1999.

GONZÁLEZ VIÑAS, M. A.; GARRIDO, N.; WITTIG DE PENNA, E. Free Choice Profiling of Chilean Goat Cheese. **Journal of Sensory Studies**, v. 16, p. 239-248, 2001.

GOWER, J.C. Generalized Procrustes Analysis. **Psychometrika**, v. 40, p. 33-51, 1975.

GRIFFIN, I. J.; DAVILA, P. M.; ABRAMS, S. A. Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes, **British Journal of Nutrition**, 87, p. 187-191, 2002.

GUERRERO, L.; GOU, P.; ARNAU, J. Descriptive analysis of toasted almonds: a comparison between expert and semi-trained assessors. **Journal of Sensory Studies**, v. 12, p. 39-54, 1997.

GUINEE, T. P.; FOX, P. F. Salt in cheese: Physics, Chemistry, and Biological Aspects. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3^a ed. London, 2004, 617 p.

HANSEN, L. T., ALLAN-WOJTAS, P. M.; JIN, Y. L.; PAULSON, A.T. Survival of Calcium alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology**, v. 19, p. 35-45, 2002.

HENNING, D. R.; FLOWERS, R.; REISER, R.; RYSER, E. T.; FRANK, J. F. Pathogens in milk and milk products. In: WEHR, H. M.; FRANK, J. F. (Ed.) **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17th ed. Washington: American Public Health Association, 2004, 570 p.

IDF. International Dairy Federation. Fermented and non-fermented milk products - Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus* - culture media. Bulletin of the IDF, v. 306, p. 23-33, 1995.

ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms - Most probable number technique. 3^a Ed. The International Organization for Standardization, 2006.

ISO 7251. Microbiology of food and animal stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* – Most probable number technique. 3^aEd. The International Organization for Standardization, 2005.

ISO 11290-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method. The International Organization for Standardization, 1996.

ISO 6785 / IDF 93: milk and milk products – Detection de *Salmonella* spp. Suiça, 2001.

JACK, F. R.; PIGGOTT, J.R.; PATERSON, A. Discrimination of texture and appearance in cheddar cheese using consumer free-choice profiling. **Journal of Sensory Studies**, v. 8, p.167-176, 1993.

KAILASAPATHY, K. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 3, p. 39-48, 2002.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A. M.; DA CRUZ, A. G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, p. 283-308, 2011.

KARIMI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M. Review Article: Sensory Characteristics of Probiotic Cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, p. 437-452, 2012.

KASIMOĞLU, A., GÖNCÜOĞLU, M.; AKGÜN S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **International Dairy Journal**, v. 14, p.1067-1073, 2004.

KONG, F.; SINGH, R. P. Disintegration of solid foods in human stomach. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 67-80, 2008.

LANARA - Secretaria de Defesa Agropecuária. M.A. **Métodos Analíticos Oficiais de Controle de Produtos de origem animal e seus Ingredientes**. II-Métodos Físicos e Químicos. Brasília-DF: Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1981.

LACHNIT, M.; BUSCH-STOCKFISCHA, M.; KUNERTB, J.; KRAHLC, T. Suitability of Free Choice Profiling for assessment of orange-based carbonated soft-drinks. **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 257-263, 2003.

LAVERMICOCCA, P.; VALERIO, F.; LONIGRO, S. L.; DE ANGELIS, M.; MORELLI, L.; CALLEGARI, M. L.; RIZZELLO C. G.; VISCONTI, A. Study of adhesion and survival of Lactobacilli and Bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 4233-4240, 2005.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food - Principals and Practices**. Aspen, Gaithersburg: Aspen Publishers. 2010, 848p.

LOMER, M. C. E., PARKES, G. C.; SANDERSON, J. D. Review article: lactose intolerance in clinical practice – myths and realities. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 27, p. 93-103, 2008.

MAKINEN, K.; BERGER, B.; BEL-RHLID, R.; ANANTA, E. Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products. **Journal of Biotechnology**, v. 162, p. 356-365, 2012.

MAZAL, G.; VIANNA, P. C. B.; SANTOS, M. V.; GIGANTE, M. L. Effect of Somatic Cell Count on Prato Cheese Composition. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 630-636, 2007.

Mc BREARTY, S.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COLLINS, J. K.; WALLACE, J. M.; STANTON, C. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 599-610, 2001.

McFARLAND, L. V.; ELMER, G. W.; McFARLAND M. Meta-Analysis of Probiotics for the Prevention and Treatment of Acute Pediatric Diarrhea. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v.1, p. 63-76, 2006.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3^a ed. London, 2004, 617 p.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**, 3rd ed. Boca Raton: CRC, 1999. 387p.

MEULLENET, J. F.; XIONG, R.; FINDALY, C. **Multivariate and probabilistic analysis of sensory science problems**. Oxford: Blackwell Publishing. 2007. 248p.

MILESI, M.M.; MCSWEENEY, P.L.H.; HYNES, E.R. Viability and contribution to proteolysis of an adjunct culture of *Lactobacillus plantarum* in two model cheese systems: Cheddar cheese-type and soft-cheese type. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, p. 884-892, 2008.

MINERVINI, F.; SIRAGUSA, S.; FACCIA, M.; DAL BELLO, F.; GOBBETTI, M.; DE ANGELIS, M. Manufacture of Fior di Latte cheese by incorporation of probiotic lactobacilli. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 508-520, 2012.

MINUSSI, R. C.; FURTADO, M. M.; MASQUIM, M. A. C. A. V. Avaliação de métodos para a aceleração da maturação do queijo prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n° 291, p. 31-42, 1995.

MOZZI, F.; GERBINO, E.; FONT DE VALDEZ, G.; TORINO, M. I. Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in an *in vitro* gastric system. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 56-64, 2009.

NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIAZAIA, P. D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo Prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p. 177-182, 2003.

OBERG, C. J.; MOYES, L. V.; DOMEK, M. J.; BROTHENSEN, C.; McMAHON, D. J. Survival of probiotic adjunct cultures in cheese and challenges in their enumeration using selective media. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 2220-2230, 2011.

OLIVEIRA, M. N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 935-942, 2001.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacteriums* pp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 446-456, 2006.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium* sp. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 67-78, 2007a.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium* sp. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 937-945, 2007b.

ONG, L.; SHAH, N.P. Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1260-1268, 2009.

OOI, L. G.; LIONG M. T. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 2499-2522, 2010.

ORTEGA, N.; ALBILLOS, S.M.; BUSTO, M.D. Application of factorial design and response surface methodology to the analysis of bovine caseins by capillary zone electrophoresis. **Food Control**, v. 14, p. 307-315, 2003.

OTTE, J.; ZAKORA, M.; KRISTIANSEN, K.R.; QVIST, K.B. Analysis of bovine caseins and primary hydrolysis products in cheese by capillary zone electrophoresis. **Lait**, v. 77, p. 241-257, 1997.

ÖZER, B.; UZUN, Y. S.; KIRMACI, H. A. Effect of microencapsulation on viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during Kasar cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, p. 237-244, 2008.

ÖZER, B.; KIRMACI, H. A.; ŞENEL, E.; ATAMER, M.; HAYALOĞLU, A. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 22-29, 2009.

PALOMAR, M. M.; GALDEANO, C. M.; PERDIGÓN, G. Influence of a probiotic lactobacillus strain on the intestinal ecosystem in a stress model mouse. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 35, p. 77-85, 2014.

PICOT, A.; LACROIX, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 505-515, 2004.

POSSEMIERS, S.; MARZORATI, M.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 97-103, 2010.

REHN, U.; PETERSEN, M.A.; SAEDÉN, K. H.; ARDÖ, Y. Ripening of extra-hard cheese made with mesophilic DL-starter. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 844-851, 2010.

RICHARDSON, G.H. **Standard methods for examination of dairy products**. American Public Health Association, Washington, 1985.

RODRIGUES, D.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; FREITAS, A. C.; GOMES, A. M. P.; DUARTE, A. C. Analytical strategies for characterization and validation of functional dairy foods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 41, p. 27-45, 2012.

ROJAS-RUA, N.E. Desempenho das escalas híbrida e autoajustável no Perfil Livre associado a consumidores. Dissertação (mestrado em Alimentos e Nutrição). Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. 2003. 174p.

ROSS, R. P.; FITZGERALD, G.; COLLINS, K.; STANTON, C. Cheese delivering biocultures – probiotic cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 71-78, 2002.

SAARELA, M., MOGENSEN, G., FONDEN, R., MATTO, J. AND MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197-215, 2000.

SANTILLO, A.; ALBENZIO, M. Influence of lamb rennet paste containing probiotic on proteolysis and rheological properties of Pecorino cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1733-1742, 2008.

SHELLER, M.; O'SULLIVAN, D. J. Comparative analysis of an intestinal strain of *Bifidobacterium longum* and a strain *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* in Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1122-1131, 2011.

SHIHATA, A.; SHAH, N. P. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 10, p. 401-408, 2000.

SHIMAKAVA, Y.; MATSUBARA, S.; YUKI, N.; IKEDA, M.; ISHIKAWA, F. Evaluation of *Bifidobacterium breve* strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. **International Journal of Food Microbiology**, v.81, p. 131-136, 2003.

SILVEIRA, A. C. Fabricação e avaliação da maturação de queijo Prato obtido a partir de leite pré-acidificado com CO₂ e redução de coagulante. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, 2009.

SMIT, G.; VERHEUL, A.; VAN KRANENBURG, R.; AYAD, E.; SIEZEN, R.; ENGELS, W. Cheese flavor development by enzymatic conversions of peptides and amino acids. **Food Research International**, v. 33, p. 153-160, 2000.

SOUZA, M.J.; ARDÖ Y.; McSWEENEY, P.L.H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v.11, p. 327-345, 2001.

STANTON, C.; GARDINER, G.; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v.8, p. 491-496, 1998.

STANTON, C; GARDINER, G.; MEEHAN, H.; COLLINS, K.; FITZGERALD, G.; LYNCH, P. B.; ROSS, R. P. Market potential for probiotics. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 476-483, 2001.

STONE, H.; SIDEL, J.L. Sensory evaluation practices. 3rd ed. London: Elsevier. 2004. 408 p.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory proper. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 215-225, 2002.

THARMARAJ, N.; SHAH, N. P. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2288-2296, 2003.

TERZAGHI, B. E. AND SANDINE, W. E. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. **Applied Microbiology**, v. 29, p. 807-813, 1975.

UPADHYAY, V. K.; McSWEENEY, P. L. H.; MAGBOUL, A. A. A.; FOX, P. F. Proteolysis in cheese during ripening. In P. F. FOX, P. L. H. McSWEENEY; T. M. COGAN; T. P. GUINEE (Ed.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. v. 1 - General Aspects. 3rd ed. London, 2004, 617 p.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics - From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v.18 p. 714-728, 2008.

VÁSQUEZ, A.; MOLIN, G.; PETTERSSON, B.; ANTONSSON, M. AND AHRNE, S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p. 430-441, 2005.

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; DAMÁSIO, M. H. Análise Descritiva de Perfil Livre em Queijo Mozzarella de Leite de Búfala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 536-542, 2004.

VIANNA, P. C. B.; MAZAL, G.; SANTOS, M. V.; BOLINI, H. M. A.; GIGANTE, M. L. Microbial and Sensory Changes Throughout the Ripening of Prato Cheese Made from Milk with Different Levels of Somatic Cells. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1743-1750, 2008.

VINDEROLA, C. G.; PROSELLO, W.; GHIRBERTO, D.; REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1905-1911, 2000a.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, p. 271-275, 2000b.

WALSTRA, P.; WOULTER, J.T.M; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2nd ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2006. 739 p.

WANG, J.; GUO, Z.; ZHANG, Q.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, M. X.; ZHANG, H. P. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2468-2476, 2009.

WILLIAMS, A.A.; LANGRON, W.S, The use of Free-choice profiling for the evaluation of commercial Ports. **Journal Science Food Agriculture**, v. 35, p. 558-568, 1984.

WU, W.; GUOB, Q.; DE JONG, S.; MASSART, D.L. Randomisation test for the number of dimensions of the group average space in generalised Procrustes analysis. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 191-200, 2002.

YVON, M.; RIJNEN, L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 185-201, 2001.

ZHU, Y.; LUO T. M.; JOBIN, C.; YOUNG, H. A. Gut microbiota and probiotics in colon tumorigenesis. **Cancer Letters**, v. 309, p. 119-127, 2011.

ANEXO 1

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP (CAMPUS
CAMPINAS)



PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação da maturação e do perfil sensorial do queijo Prato probiótico tipo lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 06155612.0.0000.5404

Pesquisador: Karina da Silva Chaves

Instituição: Faculdade de Engenharia de Alimentos

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 86616

Data da Relatoria: 28/08/2012

Apresentação do Projeto:

Estudo consistindo na avaliação sensorial do queijo Prato probiótico tipo lanche adicionado de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 contendo duas cepas comerciais comumente utilizadas em produtos lácteos comerciais. A pesquisa será realizada na Universidade Estadual de Campinas, na Faculdade de Engenharia de Alimentos, no Departamento de Tecnologia de Alimentos. Os queijos serão produzidos com leite pasteurizado com adição de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12, separadamente ou juntos. Após avaliação das características físico-químicas dos queijos durante o armazenamento e avaliação da viabilidade dos micro-organismos probióticos durante simulação das condições gastrointestinais, 50 indivíduos maiores de 18 anos serão convidados a realizar a análise sensorial do alimento através de um teste de aceitação a consumidores, aplicado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos, FEA, UNICAMP.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da adição de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12, adicionados separadamente ou juntos, sobre o desenvolvimento da maturação e das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo Prato probiótico tipo lanche e a viabilidade dos micro-organismos probióticos durante o armazenamento do produto e a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os queijos produzidos no estudo serão avaliados quanto aos padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira, as cepas de microorganismos probióticos que serão utilizadas são cepas comerciais e o leite que será utilizado no estudo será pasteurizado. Portanto, o produto não irá oferecer riscos ao consumidor. Só serão incluídos consumidores que não apresentam alergia a quaisquer ingredientes do queijo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desenho do estudo detalhado e consistente. Metodologia de análise de dados adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE com linguagem acessível e objetiva.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-887

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIENCIAS
MEDICAS - UNICAMP (CAMPUS
CAMPINAS)



Recomendações:

sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme discussão em reunião do colegiado aos 28/08/2012.

CAMPINAS, 31 de Agosto de 2012

Assinado por:
Carlos Eduardo Steiner

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

ANEXO 2

DEFINIÇÃO DOS TERMOS DESCRITORES 28 DIAS DE ARMAZENAMENTO

Provador 1

Aparência:

Cor amarela: Característica da coloração de queijo Prato.

Opaco: Ausência de brilho

Aroma:

Gordura: Remete ao odor de manteiga

Sabor:

Adstringente: Residual não agradável na boca.

Amargo: Característico de queijo maturado.

Suave: Característico de queijo Prato, sem um sabor predominante

Textura:

Macio: Boa mastigabilidade

Provador 2

Aparência:

Cor amarela: Característica de queijo Prato.

Homogeneidade em relação à cor: Há partes que podem ter diferentes tonalidades de amarelo.

Homogeneidade em relação à soldagem da massa: Presença de pequenas olhaduras ou não.

Aroma:

Ácido: Característico de ácido produzido por fermento láctico; ácido láctico.

Adocicado: Característico de queijos de massa semi-cozida como gouda.

Amanteigado: Característico da produção de diacetil.

Característico de queijo Prato: Combinação dos atributos adocicado e amanteigado.

Sabor:

Ácido: Característico de ácido produzido por fermento láctico; ácido láctico.

Amargo: Característico de queijo Prato em período de maturação; semelhante a solução amarga de quinino, por exemplo.

Característico de queijo Prato: Combinação dos atributos adocicado e amanteigado.

Manteiga: Característico da produção de diacetil.

Salgado: Característico do uso de cloreto de sódio.

Textura:

Homogeneidade: Em relação à percepção de partículas mais duras durante a mastigação.

Maciez: O quanto o queijo é resistente à mordida.

Provador 3

Aparência:

Amarelo: Coloração característica de queijo Prato.

Brilho: Reflexão da luz.

Aroma:

Amanteigado: Aroma semelhante ao de manteiga.

Doce: Aroma doce proveniente do metabolismo de bactérias heterofermentativas.

Sabor:

Amargo: Decorrente de peptídeos hidrofóbicos originados durante a maturação.

Manteiga: Sabor característico de manteiga.

Sal: Presença de sais.

Textura:

Cremosa: Espalhabilidade na língua e no palato.

Macia: Momento da ruptura com os dentes.

Provador 4

Aparência:

Cor amarela: Cor característica de queijo Prato.

Uniformidade: Superfície lisa sem “buracos”.

Aroma:

Queijo: Característico de queijo Prato

Sabor:

Queijo: Sabor característico de queijo Prato.

Salgado: Gosto salgado característico de queijo Prato.

Textura:

Firmeza: Resistência ao corte, à mordida.

Maciez: Facilidade para morder, cortar.

Provador 5**Aparência:**

Cor amarela: Cor característica de queijo maturado.

Brilho: Reflexão da luz.

Creiosidade aparente: Força necessária para penetrar o palito de dente no cubo de queijo.

Aroma:

Queijo Prato: Aroma característico de queijo Prato.

Leite cozido: Aroma característico de leite cozido.

Gordura: Característico de queijos gordurosos.

Sabor:

Queijo Prato: Sabor característico de queijo Prato.

Salgado: Sabor característico de queijo salgado.

Ácido: Gosto característico de produtos ácidos.

Gordura: Gosto característico de queijos gordurosos.

Amargo: Gosto amargo

Residual ácido: Sabor característico de queijo ácido, após engolir.

Residual amargo: Gosto amargo após engolir.

Textura:

Dureza: Força necessária para cortar o queijo na primeira mordida.

Creiosidade: Força necessária para mastigar o queijo.

Provador 6**Aparência:**

Cor amarela: Cor amarela característica de queijo Prato.

Homogeneidade: Massa compacta, sem bolhas de ar e com a mesma aparência em toda a amostra.

Aroma:

Leite: Aroma característico de leite.

Manteiga: Aroma característico da gordura do leite.

Queijo: Aroma característico de queijo Prato.

Sabor:

Acidez: Sabor ácido.

Adstringência: Sensação de “amarrar” a boca.

Leite: Sabor característico de leite.

Queijo: Sabor característico de queijo Prato.

Gosto amargo: Amargor percebido na amostra.

Gosto salgado: Quantidade de sal no queijo.

Textura:

Derretimento na boca: Capacidade do queijo de desmanchar na boca.

Maciez: Força necessária para mordida.

Provedor 7**Aparência:**

Cor amarela: Característica de certos tipos de queijo.

Aroma:

Leite: Característico de certos tipos de queijo.

Sabor:

Gosto amargo: Não característico de queijo.

Gosto de leite: Característico de certos tipos de queijo.

Textura:

Cremosa: Típica de alguns tipos de queijo.

Provador 8

Aparência:

Amarelo: Característico de queijo Prato.

Homogeneidade: Característica de queijo Prato.

Aroma:

Característico de queijo: Queijo Prato.

Sabor:

Amargo: Residual amargo, adstringente.

Salgado: Característico de queijo.

Textura:

Creiosidade: Macio, não muito sólido (duro), pouco fraturável.

Provador 9

Aparência:

Amarelo: Cor característica do queijo Prato (gordura e corante).

Brilho: Aparência brilhante, resultante da reflexão da luz.

Olhaduras: Orifícios arredondados que podem ser mecânicos ou por micro-organismos.

Aroma:

Manteiga: Produto de aparência, sabor e aroma característico.

Doce: Aroma que lembra o aroma de chantilly.

Sabor:

Amargo: Sensação desagradável.

Sabor característico de queijo Prato: Sabor característico de queijo Prato devido à cultura lática e maturação, produzindo sabor característico.

Sal: Presença de sais.

Textura:

Creiosa: Sensação pastosa percebida na boca.

Macia: Força para mastigar.

Provador 10

Aparência:

Brilho: Capacidade de refletir a luz.

Cor amarela: Característico de urucum em queijo.

Aroma:

Ácido: Aroma de ácido láctico produzido pela cultura láctica.

Adocicado: Aroma doce produzido pela ação de micro-organismos / enzimas.

Amanteigado: Aroma característico de manteiga.

Característico de queijo Prato: Aroma produzido pela ação da cultura láctica e enzimas durante o processo de maturação do queijo.

Sabor:

Ácido: Ácido láctico produzido por micro-organismos da cultura láctica.

Amargo: Peptídeos hidrofóbicos produzidos durante a maturação.

Amendoado: Sabor amendoado produzido pela ação de cultura láctica durante a maturação.

Manteiga: Sabor característico de manteiga.

Maturado: Sabor produzido por micro-organismos / enzimas durante processo de maturação com o tempo.

Salgado: Sabor dado pela concentração de NaCl no queijo.

Textura:

Corpo: Resistência produzida pelo queijo ao morder.

Provador 11

Aparência:

Brilho: Brilho devido à gordura.

Cor amarela: Cor típica de queijo Prato.

Homogeneidade da massa: Ausência de furos.

Aroma:

Queijo Prato: Aroma típico de queijo Prato.

Lácteo: Típico de produtos de leite.

Sabor:

Amargo: Gosto amargo.

Queijo Prato: Sabor típico de queijo Prato.

Sal: Gosto salgado.

Textura:

Adesividade: Adesivo aos dentes ao mastigar.

Maciez: Compressão ao morder.

Provador 12**Aparência:**

Amarelo: Queijo muçarela.

Aroma:

Doce: Quando ao cheirar a amostra e após engolir a sensação doce lembra o sabor de doce de leite.

Sabor:

Ácido: Sensação ácida ao morder que lembra a presença de ácido em iogurte.

Doce: Ao morder e engolir percepção de sabor doce na intensidade do queijo muçarela e mais fraco de doce de leite.

Textura:

Desintegra: Facilidade de desmanchar na boca.

Macia: Pouca resistência ao morder, lembrando queijo muçarela.

Provador 13**Aparência:**

Amarelo: Que lembra queijo prato, muçarela, cheddar.

Aroma:

Adocicado: Lembra aroma de requeijão.

Sabor:

Amargo: Folha de boldo.

Azedo: limão, abacaxi, acerola.

Textura:

Macia: Lembra manteiga em barra, com menos gordura.

DEFINIÇÃO DOS TERMOS DESCRITORES 60 DIAS DE ARMAZENAMENTO

Prorador 1

Aparência:

Cor amarela: Característica da coloração de queijo Prato.

Opaco: Ausência de brilho

Aroma:

Gordura: Remete ao odor de manteiga

Sabor:

Adstringente: Residual não agradável na boca.

Amargo: Característico de queijo maturado.

Suave: Característico de queijo Prato, sem um sabor predominante.

Produto Fermentado: remete ao sabor de produtos lácteos acrescidos de cultura.

Textura:

Macio: Boa mastigabilidade

Prorador 2

Aparência:

Cor amarela: Característica de queijo Prato.

Homogeneidade em relação à cor: Há partes que podem ter diferentes tonalidades de amarelo.

Homogeneidade em relação à soldagem da massa: Presença de pequenas olhaduras ou não.

Aroma:

Ácido: Característico de ácido produzido por fermento láctico; ácido láctico.

Adocicado: Característico de queijos de massa semi-cozida como gouda.

Amanteigado: Característico da produção de diacetil.

Característico de queijo Prato: Combinação dos atributos adocicado e amanteigado.

Sabor:

Ácido: Característico de ácido produzido por fermento láctico; ácido láctico.

Amargo: Característico de queijo Prato em período de maturação; semelhante a solução amarga de quinino, por exemplo.

Característico de queijo Prato: Combinação dos atributos adocicado e amanteigado.

Manteiga: Característico da produção de diacetil.

Salgado: Característico do uso de cloreto de sódio.

Textura:

Homogeneidade: Em relação à percepção de partículas mais duras durante a mastigação.

Maciez: O quanto o queijo é resistente à mordida.

Prorador 3**Aparência:**

Amarelo: Coloração característica de queijo Prato.

Brilho: Reflexão da luz.

Aroma:

Amanteigado: Aroma semelhante ao de manteiga.

Doce: Aroma doce proveniente do metabolismo de bactérias heterofermentativas.

Sabor:

Amargo: Decorrente de peptídeos hidrofóbicos originados durante a maturação.

Manteiga: Sabor característico de manteiga.

Sal: Presença de sais.

Textura:

Cremosa: Espalhabilidade na língua e no palato.

Macia: Momento da ruptura com os dentes.

Provador 4

Aparência:

Cor amarela: Cor característica de queijo Prato.

Uniformidade: Superfície lisa sem “buracos”.

Aroma:

Queijo: Característico de queijo Prato

Sabor:

Queijo: Sabor característico de queijo Prato.

Salgado: Gosto salgado característico de queijo Prato.

Acidez: sabor ácido, de ácido cítrico. Sabor de ácidos orgânicos.

Textura:

Firmeza: Resistência ao corte, à mordida.

Maciez: Facilidade para morder, cortar.

Provador 5

Aparência:

Cor amarela: Cor característica de queijo maturado.

Brilho: Reflexão da luz.

Aroma:

Queijo Prato: Aroma característico de queijo Prato.

Gordura: Característico de queijos gordurosos.

Sabor:

Queijo Prato: Sabor característico de queijo Prato.

Salgado: Sabor característico de queijo salgado.

Ácido: Gosto característico de produtos ácidos.

Gordura: Gosto característico de queijos gordurosos.

Amargo: Gosto amargo.

Residual ácido: Sabor característico de queijo ácido, após engolir.

Residual amargo: Gosto amargo após engolir.

Textura:

Dureza: Força necessária para cortar o queijo na primeira mordida.

Creiosidade: Força necessária para mastigar o queijo.

Provador 6

Aparência:

Cor amarela: Cor amarela característica de queijo Prato.

Homogeneidade: Massa compacta, sem bolhas de ar e com a mesma aparência em toda a amostra.

Aroma:

Leite: Aroma característico de leite.

Manteiga: Aroma característico da gordura do leite.

Queijo: Aroma característico de queijo Prato.

Sabor:

Acidez: Sabor ácido.

Adstringência: Sensação de “amarrar” a boca.

Leite: Sabor característico de leite.

Queijo: Sabor característico de queijo Prato.

Gosto amargo: Amargor percebido na amostra.

Gosto salgado: Quantidade de sal no queijo.

Acidez residual: acidez percebida após engolir o alimento.

Textura:

Derretimento na boca: Capacidade do queijo de desmanchar na boca.

Maciez: Força necessária para mordida.

Provador 7

Aparência:

Cor amarela: Característica de certos tipos de queijo.

Aroma:

Leite: Característico de certos tipos de queijo.

Sabor:

Gosto amargo: Não característico de queijo.

Gosto de leite: Característico de certos tipos de queijo.

Acidez: Percepção do sabor ácido devido fermentação.

Textura:

Cremosa: Típica de alguns tipos de queijo.

Provador 8

Aparência:

Amarelo: Característico de queijo Prato.

Homogeneidade: Característica de queijo Prato.

Aroma:

Característico de queijo: Queijo Prato.

Sabor:

Amargo: Residual amargo, adstringente.

Salgado: Característico de queijo.

Textura:

Creiosidade: Macio, não muito sólido (duro), pouco fraturável.

Provador 9

Aparência:

Amarelo: Cor característica do queijo Prato (gordura e corante).

Brilho: Aparência brilhante, resultante da reflexão da luz.

Olhaduras: Orifícios arredondados que podem ser mecânicos ou por micro-organismos.

Aroma:

Manteiga: Produto de aparência, sabor e aroma característico.

Doce: Aroma que lembra o aroma de chantilly.

Sabor:

Amargo: Sensação desagradável.

Sabor característico de queijo Prato: Sabor característico de queijo Prato devido à cultura lática e maturação, produzindo sabor característico.

Sal: Presença de sais.

Textura:

Creiosa: Sensação pastosa percebida na boca.

Macia: Força para mastigar.

Provador 10

Aparência:

Brilho: Capacidade de refletir a luz.

Cor amarela: Característico de urucum em queijo.

Aroma:

Ácido: Aroma de ácido láctico produzido pela cultura láctica.

Adocicado: Aroma doce produzido pela ação de micro-organismos / enzimas.

Amanteigado: Aroma característico de manteiga.

Característico de queijo Prato: Aroma produzido pela ação da cultura láctica e enzimas durante o processo de maturação do queijo.

Sabor:

Ácido: Ácido láctico produzido por micro-organismos da cultura láctica.

Amargo: Peptídeos hidrofóbicos produzidos durante a maturação.

Amendoado: Sabor amendoado produzido pela ação de cultura láctica durante a maturação.

Manteiga: Sabor característico de manteiga.

Maturado: Sabor produzido por micro-organismos / enzimas durante processo de maturação com o tempo.

Salgado: Sabor dado pela concentração de NaCl no queijo.

Textura:

Corpo: Resistência produzida pelo queijo ao morder.

Provador 11

Aparência:

Brilho: Brilho devido à gordura.

Cor amarela: Cor típica de queijo Prato.

Homogeneidade da massa: Ausência de furos.

Aroma:

Queijo Prato: Aroma típico de queijo Prato.

Lácteo: Típico de produtos de leite.

Sabor:

Amargo: Gosto amargo.

Queijo Prato: Sabor típico de queijo Prato.

Sal: Gosto salgado.

Textura:

Adesividade: Adesivo aos dentes ao mastigar.

Maciez: Compressão ao morder.

Provador 12**Aparência:**

Amarelo: Queijo muçarela.

Aroma:

Doce: Quando ao cheirar a amostra e após engolir a sensação doce lembra o sabor de ambrosia.

Sabor:

Ácido: Sensação ácida ao morder que lembra a presença de ácido em iogurte.

Doce: Ao morder e engolir percepção de sabor doce na intensidade do queijo muçarela e mais fraco de doce de leite.

Textura:

Desintegra: Facilidade de desmanchar na boca.

Macia: Pouca resistência ao morder, lembrando queijo muçarela.

Provador 13**Aparência:**

Amarelo: Que lembra queijo prato, muçarela, cheddar.

Aroma:

Adocicado: Lembra aroma de requeijão.

Sabor:

Amargo: Folha de boldo.

Azedo: limão, abacaxi, acerola.

Textura:

Macia: Lembra manteiga em barra, com menos gordura.

Provador 14**Aparência:**

Intensidade da cor: Varia dependendo da tonalidade.

Aroma:

Manteiga: Odor suave que lembra manteiga.

Queijo: Odor forte característico de queijos.

Sabor:

Sal: Gosto forte que fica na boca característico do sal.

Textura:

Dureza: Varia de acordo com a rigidez na boca.

Maciez: A maciez varia de acordo com a textura mais dura ou mais macia percebida na boca.